

Departement für Pferde  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

---

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)  
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS  
Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von Frau Dr. med. vet. Karina Klein

## **Der FAST-Nail –Ein modifizierter Marknagel mit flexiblen Dynamisierungseigenschaften**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Falk Valentin Reichle**

Tierarzt  
aus Neuss (Deutschland)

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. (PhD) Stephen Ferguson, Korreferent

Zürich 2016





Departement für Pferde  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Anton Fürst, Dipl. ECVS

---

Musculoskeletal Research Unit (MSRU)  
Leiterin: Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Dipl. ECVS  
Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von Frau Dr. med. vet. Karina Klein

## **Der FAST-Nail –Ein modifizierter Marknagel mit flexiblen Dynamisierungseigenschaften**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Falk Valentin Reichle**

Tierarzt  
aus Neuss (Deutschland)

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg, Referentin

Prof. Dr. (PhD) Stephen Ferguson, Korreferent

Zürich 2016



Meiner Familie



Zusammenfassung.....	1
Summary .....	2
1 Einleitung .....	3
1.1 Zielsetzung der Arbeit .....	3
2 Literaturübersicht .....	5
2.1 Knochenheilung .....	5
2.1.1 Direkte (primäre) Frakturheilung.....	6
2.1.2 Indirekte (sekundäre) Knochenheilung.....	6
2.2 Biomechanische Einflüsse.....	8
2.3 Entwicklung eines Marknagels mit flexibler axialer Mikromotion.....	10
3 Material und Methoden .....	14
3.1 Aufbau der Studie.....	14
3.2 Eingesetzte Implantate .....	16
3.3 Tiere .....	17
3.4 Tierkennzeichnung .....	18
3.5 Operation .....	18
3.5.1 Operationsvorbereitung.....	18
3.5.2 Anästhesie .....	20
3.5.3 Chirurgischer Eingriff .....	21
3.5.4 Besonderheit in der Fast 2 Gruppe.....	27
3.6 Postoperatives Management .....	28
3.6.1 Postoperative Röntgenbilder.....	28
3.6.2 Cast Verband .....	29
3.6.3 Aufwachphase und Hängesystem .....	30
3.6.4 Medikation.....	31
3.6.5 Fluoreszenzinjektion .....	32

3.7	Schlachtung und Probengewinnung .....	32
3.8	Probenaufbereitung.....	33
3.9	Anfertigung der Schnitte.....	34
3.10	Biomechanische Testung .....	35
3.11	Histologische Auswertung .....	38
3.11.1	Digitalisierung der Dickschnitte .....	38
3.11.2	Histomorphometrische Auswertung der Dickschnitte.....	38
3.11.3	Digitalisierung der Fluoreszenzschnitte .....	39
3.11.4	Qualitative Beurteilung der Fluoreszenzschnitte .....	39
3.11.5	Quantitative Beurteilung der Fluoreszenzschnitte.....	39
3.12	Radiologische Auswertung.....	41
3.12.1	$\mu$ -CT Untersuchung .....	41
3.12.2	Auswertung der Radiographien .....	42
3.12.3	Auswertung der Mikroradiographien .....	44
3.13	Statistische Analyse.....	44
<hr/>		
4	Resultate.....	45
4.1	Operation.....	45
4.2	Postoperative Phase .....	45
4.3	Biomechanische Testung .....	48
4.3.1	Maximales Drehmoment.....	48
4.3.2	Torsionssteifigkeit .....	48
4.4	Ergebnisse der Radiologie.....	49
4.4.1	Ergebnisse der $\mu$ CT-Untersuchung .....	49
4.4.2	Ergebnis der Auswertung der Röntgenbilder.....	50
4.4.3	Auswertung der Mikroradiographien .....	54
4.5	Histologische Untersuchung .....	56
4.5.1	Ergebnis histomorphometrische Untersuchung Dickschnitte.....	56
4.5.2	Ergebnis der Untersuchung der Fluoreszenzschnitte .....	56

5	Diskussion.....	58
5.1	Ziel der Studie .....	58
5.2	Tiermodell.....	58
5.3	Aufbau der Studie.....	61
5.4	Operation und postoperative Phase.....	63
5.5	Radiographien, Cast, Probengewinnung und Aufbereitung .....	65
5.6	Biomechanische Testung.....	68
5.7	Histologische Auswertung.....	68
5.8	Auswertung der Fluoreszenzschnitte.....	69
5.9	Abschliessende Diskussion .....	70
5.10	Schlussfolgerung und Perspektive .....	74
6	Literaturverzeichnis.....	75
7	Abkürzungsverzeichnis .....	81
8	Anhang .....	83
8.1	Tabellen .....	83
8.2	Diagramme .....	93
8.3	Abbildungen.....	95
	Danksagung.....	104
	Lebenslauf .....	105





## **Zusammenfassung**

In der vorliegenden Studie wurde die Frakturheilung mit einem modifizierten Marknagel untersucht. Hierfür versetzte der Umbau eines kommerziellen Standardnagels diesen in die Lage, eine axiale Dynamisierung des Frakturspaltes herbeizuführen, worauf sich der Name Fast-Nail (Flexible Axial Stimulation Nail) bezieht.

Insgesamt wurde an 18 Schafen eine 90° Tibiaosteotomie durchgeführt und die Tiere in drei Gruppen zu je sechs Schafen unterteilt:

In der Kontrollgruppe kam ein Marknagel ohne axiale Dynamisierung zum Einsatz um den Defekt zu versorgen.

In den beiden anderen Gruppen erfolgte die Frakturversorgung einerseits mit einem Fast Nail, dessen axiale Bewegung durch eine Schraube für 8 Tage blockiert war (Fast 2 Gruppe), und zum anderen mit einem Nagel, welcher wie der Fast-Nail eine axiale Bewegung ermöglichte, jedoch aus fehlerhaften Konstruktionsgründen nicht rotationsstabil war (Fast 1 Gruppe).

Postoperativ wurde der Heilungsverlauf bis zur 9. Woche radiologisch dokumentiert und der anschliessenden Schlachtung der Tiere folgten biomechanische, histologische, radiologische (Mikroradiographien und  $\mu$ CT) sowie fluorochromatische Analysen .

In dieser Studie konnten deutliche Unterschiede in der Knochenheilung zwischen den drei Versuchsgruppen aufgezeigt werden. Am schlechtesten schnitt hierbei die Gruppe Fast 1 mit der Rotationsinstabilität ab. Die Gruppe Fast 2 mit dem korrekten Fast-Nail und Blockierungsschraube wies in der Fluoreszenz die homogenste Kompaktheit des Kallus auf. In Hinblick auf die Ergebnisse der Biomechanik und der Histologie fällt diese Gruppe zwar in Punkto Maturität des Kallus hinter die Kontrollgruppe zurück, was jedoch dem hemmenden Effekt der Blockierungsschraube zugeschrieben wurde.

### Summary

This study tested the effects of a modified intramedullary nail on fracture healing. By technically modifying a commercially available standard nail the construct was able to introduce axial dynamisation of the fracture gap, hence the term “fast-nail”. A 90° tibia osteotomy was performed in 18 sheep, which were then divided into three groups. In the control group the fractured tibia was fitted with a non-dynamic intramedullary nail.

In one of the other two groups a fast-nail in which the axial movement was blocked by a screw for 8 days (Fast 2 group) was used for treatment while the other group was fitted with a nail that was supposed to be a fast-nail but was due to production problems rotationally unstable (Fast 1 group).

Radiographs documented the healing progress up to 9 weeks at which time the animals were sacrificed. Sacrifice was subsequently followed by biomechanical, histological, radiographical (microradiographs and  $\mu$ CT) examination as well as fluorescence evaluation.

This study showed clear differences between the three tested groups. The overall performance of the group fitted with the rotationally unstable nail (Fast 1) was lowest. The group with the correctly manufactured fast-nail and blocking screw (Fast 2) showed the most homogenous and compact tissue formation in the fluorescence examination. In terms of the biomechanical and histological performance the group is falling behind the control group, however one may suggest a negative effect of the blocking screw.

# 1 Einleitung

## 1.1 Zielsetzung der Arbeit

Die Dynamisierung der Frakturstelle ist ein sehr aktuelles Thema in der Osteosyntheseforschung. Tierversuche sowie klinische Studien lassen den Schluss zu, dass sich bei der Versorgung von Frakturen der langen Röhrenknochen die Applikation einer kontrollierten axialen Bewegung („Mikromotion“) positiv auf die Geschwindigkeit der Knochenheilung auswirkt [1-6]. Es wurden zu diesem Zweck schon verschiedene Mikromotion-induzierende Osteosyntheseverfahren entwickelt und getestet. Obgleich die Funktionsweisen stark variieren, lassen sie sich für eine Übersicht grob in zwei Kategorien aufteilen: Zum einen in Systeme bei denen die mechanische Beeinflussung auf einer Stimulierung durch externe Reize in der Heilungsphase beruht [7, 8] und zum anderen in Systeme bei denen die Mechanik durch das Implantat ermöglicht wird. Letzteres sind dann vorwiegend externe Fixatoren [9-11]. Externe Fixatoren haben im Vergleich mit internen Fixatoren jedoch eine höhere Wahrscheinlichkeit von Wundinfektionen, Nachoperationen und Fehlstellungen [1].

Zu den internen Fixatoren gehören neben den Marknägeln auch die Plattensysteme. Diese stehen der Marknagelung je nach Sichtweise als konkurrierend, bzw. ergänzend gegenüber und werden hier der Vollständigkeit halber aufgeführt. Bezüglich der Frage, ob Marknägeln gegenüber Plattensystemen generell zu bevorzugen sind und somit innerhalb der internen Fixatoren das „bessere“ Verfahren wären, finden sich in der Literatur keine einheitlichen Aussagen [12]. Dass auch auf dem Gebiet der Plattensysteme schon intensiv an einer dynamischen Optimierung der Fixation geforscht wird, unterstreicht jedoch nochmals die Aktualität dieses Prinzips [13-15].

Unumstritten stellt die Marknagelung für die Versorgung bestimmter Frakturen ein etabliertes und weit verbreitetes Verfahren dar [15, 18]. Sie gilt insbesondere für Frakturen der Tibiadiaphyse als Goldstandard [19].

Es wäre daher prinzipiell wünschenswert die Vorteile der Marknagelung mit den Vorteilen einer axialen Dynamisierung zu kombinieren. Zwar erlauben auch rigide-fixierte Marknägel einen gewissen Grad an interfragmentärer Bewegung. Dies setzt jedoch ein starkes Mass an Belastung der Gliedmasse durch den Patienten voraus [19]. In einer Studie von 2012 wurde daher versucht, nach einer Marknagelung eine axiale Dynamisierung postoperativ mit Hilfe eines Apparates am liegenden Patienten zu induzieren, indem eine kontrollierte Hammerbewegung auf die Ferse ausgeübt wurde [7]. Es zeigte sich auch hier der positive Nutzen der axialen Stimulation, allerdings mit dem Nachteil, dass die Patienten über Wochen täglich am Apparat behandelt werden mussten. Wolf, welcher in einer Studie beim Schaf die postoperative Bewegung mittels einer vibrierenden Plattform induzierte, konnte im Gegensatz dazu keine Verbesserung der Knochenheilung feststellen, womöglich weil die axiale Bewegung nicht zielgerichtet genug war [20].

Die hier vorliegende Studie baut auf den Ergebnissen einer Kadaverstudie auf, in der ein kommerzieller Marknagel mittels eines geringfügigen Umbaus und eines beweglichen Bauteils technisch so modifiziert wurde, dass eine kontrollierte axiale Bewegung im Frakturspalt möglich war [21, 22]. Bei diesem in der Kadaverstudie zum Einsatz gebrachten Konstrukt wurde gemessen, wie viel Kraft benötigt wurde um den Frakturspalt zu dynamisieren [21]. Es konnte gezeigt werden, dass bereits das Eigengewicht der Gliedmasse ausreichend war um mit dem neuentwickelten System eine Dynamisierung der Fraktur zu erzielen. Dies ist klinisch von grossem Interesse, bedeutet es doch, dass die Patienten schon in der frühen Heilungsphase auch bei sehr vorsichtiger Belastung der Gliedmasse von den Vorteilen der kontrollierten axialen Bewegung im Frakturspalt profitieren könnten [19, 23].

Die nun vorliegende Studie hat den Zweck die Effizienz dieses, nach seinem Wirkprinzip „Fast-Nail“ (Flexible axiale Stimulation Nagel) benannten, modifizierten Marknagels in einem etablierten Tibiaosteotomiemodell am Schaf zu evaluieren [23, 24].

## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Knochenheilung**

Bei Wirbeltieren haben die Knochen die Funktion eines internen Schutz- und Stützsystems und sind weiterhin Teil der passiven Komponente des Bewegungsapparates. Aus dieser Funktion heraus erklärt sich, dass Knochen biologisch so konstruiert sind, starke Belastungen zu tolerieren und im Falle eines durch Überbelastung entstandenen Funktionsverlustes diesen möglichst schnell und effizient wiederzuerlangen [25]. Im Vergleich mit anderen Organsystemen hat Knochen eine hohe Fähigkeit zur Regeneration [26, 27]. Der Terminus „Regeneration“ verdeutlicht die Fähigkeit des Knochen zur einer kompletten, strukturellen und funktionellen Wiederherstellung im Rahmen einer „Restitutio ad integrum“ ohne Narbenbildung.

Jedoch gibt es gewichtige Faktoren, welche Einfluss auf den komplexen Vorgang der Knochenregeneration nehmen und dem Mediziner somit die Möglichkeit einer positiven Einflussnahme auf die Heilung eröffnen. Dies betrifft zum einen biologische Faktoren, wie beispielsweise den Allgemeinzustand des Patienten mitsamt dem Vitalitätsgrad seiner Organsysteme [28, 29] sowie zum anderen mechanische Faktoren wie die Grösse des Knochendefektes, die Lokalisation und die Stellung der Bruchfragmente zueinander [2, 26, 30]. Im schlechtesten Fall für den Patienten kann es aufgrund der oben genannten Faktoren zu einer verzögerten („delayed“), bis hin zu einer komplett ausbleibenden Heilung („non union“) kommen [31].

Für den Fall, dass die biomechanischen Gegebenheit an der Frakturstelle für eine Heilung nicht optimal sind indem ein Bruchspalt  $>1\text{mm}$  überwunden werden muss, bedient sich der Organismus einer Neubildung von Knochengewebe durch einen Kallus. Die Frakturheilung wird deshalb in ihre direkte Form (ohne Kallus) sowie die indirekte Form (mit Kallus) eingeteilt [27].

### **2.1.1 Direkte (primäre) Frakturheilung**

Im Idealfall, nämlich dann, wenn die Bruchenden genau aufeinander stehen und keine Bewegung haben, kommt es zur einer direkten Frakturheilung [26-28, 32]. Konkret betrifft dies vor allem unvollständige Frakturen oder aber chirurgisch versorgte Frakturen bei denen die Bruchenden eng adaptiert wurden. Die Osteone der beiden eng adaptierten Kortikalices (Substantia compacta des Knochens) können dann durch ihr gleichgerichtetes Wachstum wieder miteinander fusionieren [27, 28].

Bei Vorhandenseins einen minimalen Spaltes (Spalt  $<1\text{mm}$ ) ist immer noch eine direkte Frakturheilung möglich, indem sich zunächst ein kapillar- und fibroblastenreiches Granulationsgewebe bildet, welches zur Überbrückung dient und später durch Osteoblasten weiter differenziert. Es ist jedoch keine Kallusbildung vorhanden und der entstandene primäre Geflechtknochen wird später entsprechend den Trajektorien (Zug und Belastungslinien des Knochens) in lamellären Knochen umgebaut [27].

### **2.1.2 Indirekte (sekundäre) Knochenheilung**

Eine sekundäre Knochenheilung tritt bei den Frakturen auf, bei denen die Bedingungen für eine direkte Knochenheilung nicht gegeben sind, also die Bruchenden nicht genügend adaptiert und fixiert sind.

Der dann stattfindende Heilungsprozess lässt sich in 4 Phasen gliedern [26-28, 32, 33].

In Phase I („Entzündungsphase“) tritt zunächst Blut aus dem frakturierten Knochen aus und bildet an der Bruchstelle ein Hämatom.

Es kommt hierdurch zur Aktivierung der Entzündungskaskade und zur Freisetzung von Zytokinen. Die Proliferationsrate der Zellen im Bereich der Frakturstelle erhöht sich und es kommt zur vermehrten Einsprossung von Blutgefäßen. Dies ermöglicht den Umbau des Hämatoms in ein Granulationsgewebe, welches aus Entzündungszellen sowie Fibroblasten und strukturgebendem Kollagen besteht [33].

Hierdurch wird die Phase II („weicher Kallus“ Phase) der indirekten Frakturheilung eingeleitet, in welcher die neu gebildeten Fibrin- und Kollagenstrukturen die Bruchenden elastisch fixieren und ihre Bewegung limitieren. Die Osteoklasten bewerkstelligen den Abbau von nekrotischen Knochenzellen, während durch eingewanderte Chondroblasten die fibrinösen Anteile des Granulationsgewebes durch Faserknorpel ersetzt werden [28, 32].

In der nun folgenden Phase III („harter Kallus“ Phase) kommt es im Bereich des weichen Kallus zu einer enchondralen Ossifikation, wodurch der weiche Kallus schlussendlich in einen Geflechtknochen umgewandelt wird. Die für den Knochenaufbau zuständigen Osteoblasten folgen hierbei dem Verlauf der Kapillaren und bilden durch ihre Osteoid-Synthese eine primäre Spongiosa während parallel die Bestandteile der Knorpelmatrix durch die Einlagerung von Kalzium verknöchern. Da die so entstandene Konstruktion jedoch den Verlauf der Kapillaren widerspiegelt und nicht der biomechanisch sinnvollen Ausrichtung der Trajektorien entspricht, erklärt sich, warum beim harten Kallus die mechanische Stabilität weniger gegeben ist als bei einer intakten Knochenstruktur [27].

Es folgt daher notwendigerweise eine vierte Phase (Phase des Remodelling) in welcher der Knochen seinen biomechanisch sinnvollen Strukturumbau erfährt, also der Geflechtknochen durch die Kooperation von Osteoblasten und Osteoklasten in einen geordneten lamellären Knochen umgebaut wird [28]. Dieser Vorgang, welcher ca. ab einem Monat einsetzt, beläuft sich in der Regel auf 6-12 Monate, kann jedoch auch Jahre dauern [27, 28].

Obgleich die Frakturheilung für sich betrachtet ein natürlich ablaufender Vorgang ist, ermöglichen die Kenntnisse der Reparationsprozesse eine gezielte Einflussnahme im Rahmen einer medizinischen Intervention, beispielsweise durch eine operative Frakturversorgung.

### **2.2 Biomechanische Einflüsse**

Der biologische Prozess der sekundären Knochenheilung steht in direktem Zusammenhang mit den biomechanischen Bedingungen an der Frakturstelle [2, 23, 24, 28, 34, 35]. Die Bewegungen im Frakturspalt werden unter dem Terminus IFB (interfragmentäre Bewegung) zusammengefasst und stellen den wichtigsten biomechanischen Faktor in Bezug auf die Frakturheilung dar [24]. IFB setzt sich, entsprechend der auf den Knochen wirkenden Kräfte, aus Scherbelastungen sowie Torsions - und Biegemomenten zusammen. Sie wird beeinflusst durch die Steifheit der Fixierung und durch Art und Ausmass der physikalischen Belastung der Fraktur durch Schwerkraft und Muskelkraft [34]. Zahlreiche Studien belegen die entscheidende Bedeutung der IFB für den Heilungsverlauf [2, 23, 36-40]: Es ist die initiale Instabilität einer Fraktur und somit letztlich deren Beweglichkeit, über welche das interfragmentäre Gewebe dazu angeregt wird einen Überbrückungskallus zu bilden [41]. Die Zellen reagieren hierbei auf die Dehnung des Gewebes und werden aktiviert [41]. Wie oben bereits erläutert, erfolgt dann eine Stabilisierung der Frakturfragmente zunächst über flexibles, weiches Kallusgewebe, welches die Fragmente zwar temporär fixiert, aber deren Bewegung nicht komplett einschränkt. Diese Restbeweglichkeit führt zu einer fortgesetzten Anregung der Gewebeproliferation und so in der Folge zu der Bildung von hartem Kallus [33].

Innerhalb bestimmter Grenzen stimuliert IFB also die Kallusbildung, wobei das optimale Mass an IFB in den jeweiligen Stadien der Knochenheilung unterschiedlich ist [23, 42]. Eine aktuelle Studie zeigt auf, dass fehlende IFB,



aber auch zu lange über die Initialphase hinaus wirkende IFB, sich negativ auf den Heilungsverlauf auswirkt [43].

Aber nicht nur der Zeitraum, sondern auch die Art der Bewegung sind bedeutsam: Studien belegen einen fördernden Effekt von zyklischen, axialen Kompressionskräften sowie sehr moderaten Scherkräften auf die Knochenheilung und das Remodelling. Für statische Kompressionskräfte konnte dieses nicht nachgewiesen werden [40]. Insbesondere die Rolle von Scherkräften ist umstritten. Am Schafmodel konnte gezeigt werden, dass Scherkräfte im Frakturspalt - im Vergleich zu axialen Bewegungen gleicher Stärke - die Heilung einschränken [44]. Durch Scherkräfte proliferiert das Weichteilgewebe zusätzlich stärker, was in der Regel für eine Heilung negativ zu bewerten ist [45]. Andere Studien kommen zu dem Ergebnis dass Scherkräfte sich nicht notwendigerweise negativ auf die Heilung auswirken müssen [46, 47]. Dem gegenüber steht eine weitere Studie am Schafmodel bei der bestimmte Fixatoren, welche eine axiale Bewegung und kaum Scherkräfte erlaubten, eine stärkere Kallusbildung erzielten als Fixatoren, welche weder axiale Bewegung noch eine Scherbewegung erlaubten [3].

Eine Erklärung für die teils widersprüchlichen Resultate könnte Augat liefern [36, 48, 49]. Er kam in der Kontroverse zu folgendem Schluss: Verglichen mit axialer Bewegung scheinen, seiner Ansicht nach, die Effekte von Scherkräften sensibler auf die Faktoren „Zeit“, „Krafteinwirkung“ und „Grösse des Frakturspaltes“ zu sein.

Die Geometrie einer Fraktur (u.a. Spaltbreite und Ausmass) hat generell eine unterschiedliche Interaktion mit der IFB zur Folge. Claes et al. zeigten, dass ein hohes Mass an IFB bei kleineren Spaltbreiten positiv, bei grösseren Spaltbreiten jedoch hinderlich für den Heilungsverlauf war [50].

Dies ist einer der Gründe dafür, dass kleinere Spaltbreiten in der Regel komplikationsloser verheilen, wohingegen bei grösseren Spaltbreiten der

Organismus die Kallusquantität zu Ungunsten der Qualität erhöht, also ein weniger mineralisierter Kallus produziert wird [48].

### **2.3 Entwicklung eines Marknagels mit flexibler axialer Mikromotion**

Ausgerichtet auf das Ziel eine für den Patienten bestmögliche Osteosynthese zu schaffen, stehen dem Kliniker eine Vielzahl etablierter Methoden zur Auswahl. Beschränkt man sich auf invasive Verfahren, so gehören neben der Marknagelung auch externe Fixatoren, Plattenosteosynthesen und Cerclagen zu den am weitest verbreiteten und wichtigsten Grundprinzipien der Osteosynthese [19, 51, 52]. Die verschiedenen Verfahren in Hinblick auf ihre Effizienz zu vergleichen ist ausgesprochen komplex, da für einen Vergleich eine Vielzahl von Faktoren berücksichtigt werden müssen. Vergleichende Studien berücksichtigen beispielsweise die Lokalisation der Fraktur, die Art und das Ausmass der Fraktur sowie gegebenenfalls Punkte wie Spezies, Konstitution und Alter des Patienten[12, 42, 53]. Selbst Kenntnis und Ausstattung des Chirurgen bis hin zu ökonomischen Gesichtspunkten können für einen umfassenden Vergleich von Bedeutung sein [54]. Werden in einer definierten Patientenpopulation an der gleichen Lokalisation zwei Verfahren direkt miteinander verglichen, so sind vor allem Punkte wie die Erfolgsrate, das vergleichende Risiko von Nachoperationen, Reinfektionen, Dauer des Eingriffes und Überlebenszeit der Patienten von Interesse [55]. Ein wichtiges Augenmerk der Forschung liegt darauf, die etablierten Verfahren einer Anpassung an den medizinischen Fortschritt zu unterziehen und auf der Grundlage neuer Erkenntnisse eine Verbesserung zu erzielen.

Dies lässt sich an der langen Entwicklung der intramedullären Nagelung deutlich aufzeigen.

Berichte über den Einsatz von Osteosyntheseverfahren die dem Prinzip einer Marknagelung entsprechen gehen bis in das 16. Jahrhundert zurück, wobei das Implantat noch aus wenig geeigneten Materialien wie Holz und Elfenbein

bestand [51]. Gerhard Küntscher gilt allgemein als der Erfinder der Marknagelung, da er in den 40er Jahren des 20. Jahrhunderts auf die Idee kam das Prinzip der Nagelung, welches sich bei Frakturen des Femurhalses als erfolgsversprechend erwiesen hatte, auf Frakturen der Diaphyse zu übertragen und hierfür einen Stahlnagel zu konstruieren [51, 56, 57]. Der Erfolg der Technik und die damit verbundene intensiviertere Forschung auf dem Gebiet, führten in der Folgezeit zu zwei wichtigen Weiterentwicklungen. Zum einen erdachte man den Prozess des „Reamens“ (Englisch für das Aufbohren der Markhöhle), welcher den Einsatz grosslumigerer Nägel ermöglichte und über die so erzielte Vergrösserung der Kontaktfläche zwischen Nagel und Markhöhle zu einer stabileren Fixierung führte [17], und zum anderen den Einsatz von Verriegelungsschrauben (Englisch „interlocking screws“), welche vorrangig die Verankerung des Konstruktes verbessern sollten [57, 58].

Den Vorteilen des Reamens müssen einige Nachteile gegenübergestellt werden: Der Vorgang zerstört den Inhalt der Markhöhle und verödet die endostale Blutversorgung. Die Kortikalis kann durch das Reamen ausgedünnt werden wodurch der Knochen an Stabilität verliert oder sie kann durch die Reibungshitze beim Bohrvorgang thermal geschädigt werden [57, 59]. Trotz dieser potentiellen Nachteile belegen klinische Studien jedoch eindeutig einen positiven Effekt der Marknagelung in Kombination mit Reamen auf die Frakturheilung [60]. Durch das Reamen werden offenbar vermehrt Wachstumsfaktoren und pluripotente Stammzellen ausgeschüttet und so die Osteo- und Angiogenese deutlich stimuliert [59]. Zudem kommt es durch das Reamen zu einer deutlichen Erhöhung der Durchblutung in der umgebenden Muskulatur und im umliegenden Weichteilgewebe. Die Blutversorgung wird an der Frakturstelle durch die kortikalen Gefässe kompensiert, woraus sich jedoch auch ableitet dass im Falle einer Beeinträchtigung dieser Versorgung eine Marknagelung ohne Reamen zu empfehlen ist [61]. Tatsächlich konnte in einer vergleichenden Studie zwischen Fällen bei denen stark gereamt und

denen bei denen nur so wenig wie möglich gereamt worden war, sogar die Tendenz zu einer schnelleren Heilung in der Gruppe mit dem stärkeren Reamen gezeigt werden, wenn auch die Unterschiede nicht signifikant waren [62]. Dennoch scheint es laut Pfister regionale Diskrepanzen über den Einsatz des Reamens zu geben und scheinbar wird in den deutschsprachigen Ländern häufiger auf den Vorgang verzichtet. Der Autor vermutet eine aufwendigere operative Planung als Ursache [63]. Mehrere Autoren führen überdies aus, dass die Risiken des Reamens durch entsprechende technische Planung und Kenntnisse reduziert werden können und müssen [57, 60, 63].

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass das Aufbohren der Markhöhle trotz der langen Entwicklung, der weiten Verbreitung und den unterstützenden Studien im Detail noch immer für Kontroversen sorgt.

Die zweite wichtige Weiterentwicklung der Marknagelung, die Entwicklung von Verriegelungsschrauben, fixierte den Küntscher'schen Marknagel nicht mehr allein durch Verklemmung und erhöhte so die biomechanische Stabilität des Implantates [64]. Diese Stabilisierung hat sich sowohl bei der Marknagelung mit Aufbohrung der Markhöhle als auch bei den Marknägeln ohne Bohrung und somit kleinerem Durchmesser bewährt [65]. Die Nachteile der Verriegelungsschrauben bestehen vor allem im erhöhten operativen Zeitaufwand und dem Risiko vitale Strukturen zu verletzen [66, 67].

Es besteht jedoch die Möglichkeit über die Platzierung der Schrauben (proximal oder distal der Fraktur) die Fixierung zu „dynamisieren“. Das bedeutet, dass man die rotatorische Stabilität und die axiale Ausrichtung beibehält, jedoch eine Stauchung der Fraktur möglich ist [52]. Die Erfahrungen beim Einsatz der Marknägeln mit Verriegelungstechnik waren unter anderem entscheidend für die Weiterentwicklung des Prinzips der „biologischen Osteosynthese“, welches seit über 30 Jahren in der Osteosynthese prägend ist [56]. So zeigte sich beispielsweise, dass eine Marknagelung bei Trümmerfrakturen der Diaphyse eine Heilung auch ohne zusätzliche Reposition der Trümmerfragmente

ermöglichen konnte [68]. Die Durchblutung in der Frakturzone wird bei dieser Form der Versorgung nicht negativ tangiert, was wiederum einen schnellen Einbau der Knochenfragmente in den entlang der Blutgefäße gebildeten Kallus nach sich zieht. Dies widersprach der bis dahin geltenden Vorstellung, wonach eine möglichst genaue Reposition in Verbindung mit einer möglichst rigiden Fixierung anzustreben sei. Da dies jedoch zwangsläufig ein exaktes Freilegen der Bruchstücke erfordert, ist ein Weichteiltrauma und eine damit einhergehende Beeinträchtigung der Blutversorgung unvermeidbar, was wiederum eine Verzögerung des Heilungsvorganges nach sich zieht. Die biologische Osteosynthese hingegen postuliert für die Operationstechnik das Konzept des „no touch“. Ihr Ziel ist eine ausreichende Stabilität der Frakturregion bei gleichzeitigem Erhalt der Gewebevitalität, mit einer indirekten Knochenheilung in der Folge. Hierdurch verbesserten sich nicht nur die relativen Heilungsraten, sondern auch der Anteil an Knocheninfektionen, sowie Refrakturierungen nach Implantatentfernung [13].

Ein weiteres Ziel der biologischen Osteosynthese besteht darin, die einwirkenden Kräfte zu kontrollieren und somit innerhalb bestimmter optimaler Parameter zu halten. Anders ausgedrückt: Ein Zuviel an IFB wirkt negativ auf die Heilung, ein Zuwenig allerdings auch (siehe Kapitel 2.2 Biomechanische Einflüsse). Bei dem Prinzip der Marknagelung wurde daher in der Weiterentwicklung grosses Augenmerk darauf gelegt die Torsionskräfte unter Kontrolle zu bekommen. Eine Studie von 2005 bestätigt eine positive Korrelation zwischen der Reduzierung von Torsionskräften und einer verbesserten Heilung [45].

Aktuelle Weiterentwicklungen auf dem Gebiet der Marknagelung haben dieses Prinzip aufgegriffen und schafften es über eine Limitierung des Spielraums zwischen Marknagel und seinen Fixierungsschrauben die Torsionskräfte weiter zu reduzieren [69].

Wenn auch diese Methode effektiv die negativen Auswirkungen der Torsionskräfte eindämmt, führt die rigide Fixierung doch zu einer Reduzierung der positiv dynamisierenden Kräfte, insbesondere der axialen Bewegung. Die Vorteile von Mikromotion wurden in zahlreichen Studien belegt und auch von „locking plate“-Konstruktionen (Verriegelungsplatten) ist bekannt, dass dabei zu rigide Konstruktionen die Heilung verzögern können [14].

Die der Entwicklung des vorliegenden Testobjektes zugrundeliegende Idee war es einen Marknagel so zu modifizieren, dass die Kontrolle der torsionalen Stabilität gewährleistet bleibt und gleichzeitig ein nachweislich förderliches Mass an axialer Mikromotion induziert wird. Das entwickelte System wurde zunächst in einer Kadaverstudie in einem Tibiaosteotomie-Model auf seine biomechanische Wirksamkeit hin untersucht. Die erhobenen Befunde liessen den Schluss zu, dass die Konstruktion in der Torsionsachse stabil bleibt und gleichzeitig 1mm axiale Bewegung ermöglicht. Von dieser Kombination ist eine positive Auswirkung auf die Frakturheilung zu erwarten [22].

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Aufbau der Studie**

Für diese Studie, die in Übereinstimmung mit den Schweizer Tierschutzbestimmungen durchgeführt und vom Kantonalen Veterinäramt Zürich bewilligt wurde (21/2012), wurden insgesamt 18 adulte weibliche Schafe operiert. Alle Tiere waren zum Zeitpunkt der OP zwischen 2,5 und 3 Jahren alt (Durchschnitt 2,76 Jahre) und wogen im Durchschnitt 73,02kg (57,40-90kg).

Der planmäßige Aufbau der Studies sah zunächst nur eine Versuchstierzahl von 12 Tieren vor, welche in zwei Gruppen zu je 6 Tieren eingeteilt worden waren. Bei allen Tieren wurde eine 2,5mm breite Osteotomie der linken Tibiadiaphyse durchgeführt. Anschliessend wurde den Tieren der ersten Gruppe ein modifizierter Synthes® Marknagel (Synthes®, Oberdorf, Schweiz) mit einem beweglichen Insert eingesetzt, wohingegen bei den Tieren der

zweiten Gruppe der gleiche Synthes® Nagel mit den gleichen Modifikationen am Korpus jedoch ohne bewegliches Insert verwendet wurde. Letztere Gruppe fungierte somit als nicht-dynamisierte Kontrollgruppe.

Die Überlebenszeit der operierten Tiere betrug 9 Wochen, in denen die Tiere regelmässig klinisch und radiologisch kontrolliert wurden.

Es wurden im Vorfeld zwei Preliminärtiere operiert. Diese konnten jedoch nicht in die eigentliche Studie mit einbezogen werden, da aufgrund der Auswertungsergebnisse die Operationsmethode verändert wurde.

Eine zweite Modifikation des Studienaufbaus wurde auf der Basis der ersten biomechanischen Ergebnisse der Versuchsgruppe durchgeführt, da die Ergebnisse nicht den Erwartungen aus der Grundlagenforschung entsprachen. Hierfür war zunächst keine Erklärung zu finden. Erst nach der Schlachtung wurde festgestellt, dass ein essentielles Bauteil des Fast-Nail (das bewegliche Insert) von der Manufaktur fehlerhaft produziert worden war und nicht die geplanten Masse auswies. Es war zu diesem Zeitpunkt jedoch unklar, ob die negativen Ergebnisse auf das fehlerhaft produzierte Insert oder eine zu grosse Instabilität während der ersten Woche post-OP zurückzuführen war. Auch eine Kombination der beiden Möglichkeiten wurde in Betracht gezogen. Die diesbezüglichen Überlegungen führten zur Etablierung einer dritten Gruppe mit weiteren 6 Versuchstieren. Bei diesen Tieren wurde wiederum ein modifizierter Synthes® Marknagel mit einem diesmal korrekt hergestellten Insert verwendet. Allerdings wurde die durch das Insert vermittelte Bewegungsstimulation in der ersten postoperativen Phase mittels einer zusätzlichen Schraube blockiert. Diese Schraube wurde nach 8 Tagen in einer zweiten Kurzoperation entfernt.

Tab.1: Gruppenaufteilung in der Übersicht

Gruppe	Anzahl Tiere	Besonderheit
Fast 1	6	Fehlerhaftes Insert
Kontrollgruppe	6	
Fast 2	6	Blockierungsschraube für 8 Tage
Total:	18	

### 3.2 Eingesetzte Implantate

Das in dieser Studie zu testende Implantat wurde von der Firma Medic des CIT (Cork Institute of Technology) entwickelt und uns zur Verfügung gestellt. Es handelt sich um einen modifizierten Marknagel (Durchmesser 9mm, 04.004.340S) der Firma Synthes® (siehe Abbildungen 1 und 2 im Anhang)). In dieser Studie kamen 18 dieser Implantate zum Einsatz (12 davon zusätzlich mit einem beweglichen Insert) sowie 78 Synthes® Schrauben unterschiedlicher Länge.

Von seinem Aufbau her besteht der Fast-Nail aus drei Teilen: Zum einen aus dem Synthes® Standardnagel, zum zweiten aus einem in den Nagel eingeschweissten Korpus und zum dritten aus einem beweglichen Insert. Der Korpus wird am proximalen Ende an der Stelle in den Nagel eingeschweisst, an welcher sich die Dynamisierungs- sowie die statische Öffnung befinden. Hier wird eine entsprechende Öffnung geschaffen und der Korpus passgenau eingefügt. Der Korpus bewirkt 2 Dinge: Zum einen verändert er das Innenleben des Nagels und kann so das bewegliche Insert aufnehmen und zum anderen enthält er selber Öffnungen für Verriegelungsschrauben von 5mm Durchmesser. Das Insert wird einfach in die Kopföffnung des Nagels lose eingeführt und gleitet dann in den Korpus. Letzterer und das Insert sind gegeneinander axial verschiebbar. Dadurch, dass beide Bauteile an den Verbindungsstellen einen abgeflachten Querschnitt aufweisen, kann es hier zu keiner gegenläufigen Verschiebung kommen. Das Insert selber weist ebenfalls Öffnungen für Verriegelungsschrauben mit einem Durchmesser von 4mm auf.



Werden nun 4mm Verriegelungsschrauben eingesetzt führt man diese durch die 5mm Öffnungen im Korpus und verschraubt sie mit dem Insert. Die Differenz im Durchmesser (Schraubendurchmesser gegenüber Korpusöffnungen) bewirkt nach der Verschraubung eine Limitierung des axialen Spielraumes für das Insert auf genau 1mm.

In der Fast 2 Gruppe wurde das bewegliche Insert für 8 Tage durch eine Blockierungsschraube arretiert. Hierfür wurde das schräge OBL Loch ebenfalls entsprechend modifiziert (siehe Abb.2).

Für die Nägel der Kontrollgruppe wurde in den verwendeten Synthes® Standardnagel analog wie oben beschrieben ebenfalls ein Korpus eingeschweisst. Dies geschah vor dem Hintergrund, bei einem eventuellen Einfluss des Korpus auf die Biomechanik, für alle Gruppen gleiche Bedingungen zu schaffen. Im Gegensatz zum Korpus in den dynamischen Systemen weisen die Öffnungen für die Verriegelungsschrauben im Korpus der Kontrollgruppe jedoch den normalen Durchmesser von 4mm auf. Aufgrund des Fehlens einer dynamischen Komponente entspricht der Nagel der Kontrollgruppe also funktionell weitestgehend dem Synthes®-Standardnagel. Als Bezeichnung für die Kontrollgruppe wurde daher häufig auch der Begriff „Standard“ verwendet.

### **3.3 Tiere**

Die 18 Versuchstiere gehörten zu der Rasse "Schweizer Alpenschaf" und waren zum Zeitpunkt der OP zwischen 2,5-3 Jahre alt und hatten ein durchschnittliches Gewicht von 73,02kg (Tab.2). Die Tiere stammten aus der betriebseigenen Versuchstierherde. In selbiger wurden sie beim Ankauf einer gründlichen Untersuchung auf ihren Allgemein- und Ernährungszustand hin unterzogen und eine Trächtigkeit wurde sonographisch ausgeschlossen. Es wurde mittels Blutuntersuchungen gemäss dem Tierseuchenrecht das Vorliegen von Maedi/Visna Antikörpern untersucht und nur negativ getestete

Tiere in den Bestand aufgenommen (Virologisches Institut der Vetsuisse-Fakultät Bern). Die Tiere wurden im Rahmen der Bestandsbetreuung regelmässig gegen Clostridien und Pasteurelleninfektionen (Ovilis® Heptavac P, Intervet, Veterinaria AG, Zürich) sowie gegen Moderhinke (Footvax® ad.us.vet, Essex Tierarznei, 1ml s.c. Schering-Plough Animal Health Limited, New Zealand) geimpft und nach einem an die Befallssituation angepassten Behandlungsplan mit jährlich alternierenden Präparaten (Hapadex® 5%, 20 mg/kg KGW, p.o., Essex Tierarznei, Provect AG, Lyssach, Deutschland; Cydectin® 0,1% orale Lösung, 0,2 mg/kg KGW, Fort Dodge Veterinär GmbH, Würselen, Deutschland; ) entwurmt. Sie erhielten die turnusmässige Schur und wurden regelmässig alle 6-8 Wochen einer Klauenpflege sowie, damit einhergehend, einem tierärztlichen Gesundheitscheck unterzogen.

Bestandseigene Ohrmarken(Allflex®) stellten eine individuelle Kennzeichnung sicher.

### **3.4 Tierkennzeichnung**

Die Schafe waren in der Versuchstierherde mit bestandseigenen Ohrmarken gekennzeichnet. Am OP-Tag wurde die Ohrmarke des Bestandes entfernt und durch eine Ohrmarke (Allflex®) mit der versuchs-internen Kennnummer (17.XX) ersetzt. Zudem wurde den Schafen zum diesem Zeitpunkt subkutan an der linken Halsseite ein elektronischer Mikrochip (RID®, RF-Identification Technology, Data Mars AG, Lugano, Schweiz) implantiert.

### **3.5 Operation**

#### **3.5.1 Operationsvorbereitung**

Da die verwendeten Marknägels auf menschliche Tibiae ausgerichtet sind, musste die Gliedmassengrösse der für den Versuch verwendeten Schafe etwa der eines ausgewachsenen Menschen entsprechen. Die Schafe sollten analog zum menschlichen Schienbein eine möglichst gerade Tibia besitzen.

Bei den geeignet erscheinenden Tieren der Versuchstierherde wurden daher zunächst Röntgenbilder der Tibia angefertigt. Anhand dieser Bilder konnte bestimmt werden, ob keine zu starke Krümmung des Knochens vorlag und ob eventuelle Vorschäden bestanden. Ausserdem konnte der optimale Zugang zur Markhöhle präoperativ geplant werden. Um einen Größenvergleich zu ermöglichen wurde eine Kanüle (gelb Ø 0.90mm x 40mm G20x1½) auf die Röntgenplatte gelegt.

Es wurde festgelegt bei allen Schafen die linke Tibia zu operieren. Dies hatte den einfachen Grund dass für den ausführenden Chirurg als Rechtshänder die linke Tibia leichter zugänglich war und so für alle Tiere der gleiche operative Aufwand bestand.

Die für tauglich befundenen und für den Versuch ausgewählten Schafe wurden mindestens 7 Tage vor der Operation vom Standort der Versuchstierherde in Küttigen (Kanton Aargau, Schweiz) zu den näher gelegenen Stallungen (Raum YUS-D11 oder YMP) auf dem Gelände des Tierspitals Zürich verbracht, damit sie sich im Vorfeld der Operation an die neuen Örtlichkeiten adaptieren konnten. Während der gesamten Versuchsdauer war gewährleistet, dass der Zustand der Tiere mindestens zweimal täglich tierärztlich kontrolliert wurde.

Zwei bis drei Tage vor der Operation wurden die Schafe im Bereich der linken Tibia sowie im Halsbereich und im Bereich des Kreuzbeines geschoren. Das Scheren der Tibia sollte am Operationstag eine Zeit- und Arbeitersparnis bringen. Anschließend wurde ein Venenverweilkatheter (BD Angiocath™, 2.1\*83mm, Becton Dickinson Infusion Therapy Systems Inc., Utah, USA) in eine der beiden Venae jugularis eingelegt und mittels eines nicht-resorbierbaren Nahtmaterials (Supramid® DS30 met 3,5 Aesculpa AG&Co; Tuttlingen; Deutschland) an der Haut des Schafes adaptiert. Der venöse Zugang wurde mit einem IN-Stopper (Braun Melsungen AG, Melsungen; Deutschland) verschlossen. Den Schafen wurde bei diesem Vorgehen eine geringe Menge venöses Blut (5-10ml) entnommen und im Labor der Vetsuisse Fakultät Zürich

blutchemisch sowie hämatologisch ausgewertet. Dieses präoperative Blutbild diente zum Erkennen bzw. dem Ausschluss eventueller Narkoserisiken.

Die Schafe wurden vor der OP im nahen Reservestall der Pferdeklinik auf Sägespännern aufgestellt und durch Futterentzug 24 Stunden gefastet, wobei freier Zugang zu Trinkwasser gewährleistet war.

### **3.5.2 Anästhesie**

Am Operationstag wurde bei jedem Tier eine präanästhetische Untersuchung durchgeführt und danach die Prämedikation eingeleitet. Hierzu bekam das Tier Xylazin (0,1mg/kg KGW i.m., Streuli ad us. vet., Streuli Pharma AG, Uznach Schweiz) sowie Buprenorphin (0,01/kg KGW i.m., Temgesic®, Essex Chemie, AG; Luzern; Schweiz) injiziert. Nach 30 Minuten wurde das prämedizierte Schaf in den Operationsraum verbracht und antibiotisch mit Benzylpenicillin i (35000 I.E./kg KGW i.v.; Penicillin Natrium Streuli, Streuli Pharma AG, Uznach, Schweiz) sowie Gentamicin (4mg/kg KGW i.v., Vetagent®, Veterinaria AG, Zürich; Schweiz) versorgt. Zusätzlich wurde mit Carprofen intravenös (4mg/kg KGW i.v., Rimadyl®, Pfizer AG, Zürich, Schweiz) ein nicht-steroidales Antiphlogistikum eingesetzt sowie prophylaktisch Tetanusantitoxin (3000 I.E.; Tetanus-Serum Intervet, Veterinaria AG, Zürich, Schweiz) subkutan injiziert.

Die Narkoseeinleitung wurde mit Diazepam (0,1mg/kg KGW, Valium®, Roche Pharma AG, Reinach, Schweiz) und Ketamin (4-6mg/kg KGW i.v., Narketan®, Vetoquinol AG, Ittingen, Schweiz) durchgeführt, bei Bedarf mit Propofol (0,1-0,4 mg/kg KGW; Propofol® 1% MCT Fresenius, Fresenius Kabi AG, Stans, Schweiz) vertieft und anschließend ein Endotrachealtubus gesetzt und die Narkose mittels Isofluran-Sauerstoff-Inhalation (Isoflo®, Abott AG, Baar, Schweiz) aufrechterhalten.

Für die nun folgende Epiduralanästhesie wurde das Tier sternal auf dem Operationstisch gelagert und der Bereich um das Spatium sacrococcygeale in einer Fläche von ca. 20x20cm nachrasiert. Es erfolgte die Säuberung dieses

Bereiches mittels Hibiscrub-Seife (Hibiscrub®, SLL Healthcare Schweiz AG, Reinach Schweiz) die Entfettung mit 70%igem Alkohol und die Desinfektion mit Chlorhexidin (Hibitane® Lösung SSL Healthcare Schweiz AG, Reinach Schweiz). Nach der Epiduralanästhesie wurde das Schaf in Rückenlage verbracht. Das OP-Feld im Bereich der hinteren Gliedmasse wurde gründlich nachrasiert und nach oben bereits beschriebener und gebräuchlicher Methode aseptisch vorbereitet. Die Klaue wurde lediglich mit Hibiscrub Seife gereinigt und mit einem Einweg-Latexhandschuh überzogen. Die zu operierende Gliedmasse wurde dann mit Zellstofftüchern und eines walzenförmigen Kissens in eine waagerechte Position gebracht und stabil gehalten. Der restliche Körper des Tieres außerhalb des OP-Feldes wurde inklusive der Klaue mit sterilen Operationstüchern abgedeckt.

Zur visuellen Unterstützung sollte intraoperativ ein C-Bogen Verwendung finden. Dieser wurde im- dem OP-Feld zugewandten Bereich- ebenfalls steril verkleidet. Das gesamte im Bereich des Operationsraumes befindliche Personal musste aus Strahlenschutzgründen eine Bleischürze sowie einen Schilddrüsenchutz tragen.

### **3.5.3 Chirurgischer Eingriff**

Die Operation lässt sich in folgende Abschnitte (siehe 3.5.3.1 - 3.5.3.6) unterteilen:

- 1.) Schaffung eines exakten Zuganges zur Markhöhle
- 2.) Aushöhlen der Markhöhle
- 3.) Einsetzen des Marknagels
- 4.) Temporäre Fixierung des Marknagels
- 5.) Durchführung der Osteotomie nach vorheriger Entnahme des Nagels
- 6.) Endgültige Fixierung des Nagels

Bei der Fast 2 Gruppe bestand mit der zusätzlichen Applikation der Blockierungsschraube eine Besonderheit auf die im Abschnitt 3.5.4 eingegangen wird.

### *3.5.3.1 Schaffung eines exakten Zuganges zur Markhöhle*

Der Zugang erfolgte von lateral mittels einer mit dem Skalpell durchgeführten Hautinzision von der Patella bis zur Tuberositas tibiae reichend und parallel zum Patellarband. Mit der Durchtrennung der subkutanen Faszie wurde die Aponeurose des M. Biceps sichtbar. Diese wurde anschliessend mit einem kleinen circa 2cm langen Schnitt im Verlauf der Muskelfasern eröffnet. Unter stumpfer Entfernung des unterliegenden Muskelgewebes bis zum lateralen Kondylus des Femurs wurde ein Zugang zum Ansatzpunkt des lateralen Kollateralbandes geschaffen. Der nächste Schritt war die Bestimmung der exakten Eintrittsstelle für die Bohrung als Voraussetzung für die spätere Marknagelung. Der optimale Eintrittspunkt war anatomisch medial von der intrakondylären Erhebung der Tibia und dabei typischerweise in einer Linie mit der lateralen Begrenzung des medialen Kondylus. Für die erste Bohrung war jedoch die Bohrrichtung entscheidend, welche so gewählt werden sollte, dass sie theoretisch in einer Linie mit der Achse des Markkanals ausgehend von der Diaphyse liegt. Bedingt durch eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Krümmung der Schafstibia lag die zentrale Achse des Marknagels jedoch nicht genau in der Mitte des Kanals sondern entweder distal oder proximal davon. Um hier die korrekte Bohrrichtung zu bestimmen wurde daher ein Marknagel zur Probe an die Gliedmasse gehalten und so mittels C-Bogen Radiographien in mediolateraler sowie anterior-posteriorer Ebene die korrekte Lage verifiziert. Anschliessend wurde in der dadurch ermittelten Richtung mit Hilfe eines 5mm Bohrers ein Loch in die Markhöhle gebohrt und während des langsamen Bohrvorganges die exakte Positionierung mit weiteren C-Bogen Aufnahmen überprüft.

### 3.5.3.2 Aushöhlen der Markhöhle

Für diesen nächsten Schritt musste zunächst der Führungsdraht (Synthes® Kat.Nr. 357.399) in das Universalbohrfutter (Synthes® Kat.Nr. 393.100) gespannt werden, welcher anschließend über das Bohrloch in den intramedullären Kanal eingeführt werden konnte. Auch hier wurde die korrekte Position des Führungsdrahtes radiographisch überprüft. Im Anschluss daran wurde das Universalbohrfutter entfernt und die Schutzhülle (Synthes® Kat.Nr. 03.010.135) sowie der „Cutter“ („Stanzvorrichtung“; Synthes® Kat.Nr. 03.010.008) über den Führungsdraht geschoben, um unter Benutzung des Cutters die Markhöhle zu eröffnen. Dabei wurde darauf geachtet, dass weder Cutter noch der Führungsdraht die posteriore Kortex berührten. Nach Abschluss des Vorganges konnten Draht, Schutzhülle und Cutter entfernt werden und stattdessen die Führungsstange für die Hohlbohrung der Markhöhle in den Kanal eingeführt werden (Abb.2). Ziel dieser Aktion war es, Bohrköpfe mit einem aufsteigenden Durchmesser entlang des Führungsdrahtes in die Markhöhle einbringen zu können. Das distale Ende des Führungsdrahtes war dabei mit einer Ball-Spitze versehen und hielt so den Bohrkopf in Position, während das proximale Ende in die Bohrmaschine eingespannt wurde und so der Prozess des Aushöhlens (Reaming) begonnen wurde. Der Chirurg fing dabei mit dem kleinsten Bohrkopf an und wechselte in 0,5mm Schritten zum jeweils grösseren Bohrkopf.

Im distalen Bereich wurde dabei ein finaler Durchmesser, welcher 1,5mm über dem Durchmesser des Nagels liegt, angestrebt, wohingegen der proximale Durchmesser des Kanals 3mm weiter als der Durchmesser des Nagels sein sollte. So wurde gewährleistet, dass die Markhöhle genügend weit aufgebohrt war, um den Nagel aufnehmen zu können.

Nach Abschluss des Reaming-Vorganges konnte der Führungsdraht beiseite gelegt werden.

### **3.5.3.3 Einsetzen des Marknagels**

Um den Nagel einführen zu können wurde dessen proximales Ende über eine Verbindungsschraube (Synthes® Kat. Nr. 03.010.095) mit dem Einführungsgriff verbunden. Die Verbindungsschraube wurde mit dem Schraubenzieher (Synthes® Kat.Nr. 03.010.092) angezogen und es wurde darauf geachtet, dass der Griff nach anterior ausgerichtet war. Anschliessend wurde an diese Konstruktion zusätzlich die Zielvorrichtung (Synthes® Kat.Nr. 03.010.018) angebracht, welche später benötigt wurde um die Fixierungsschrauben richtig zu platzieren. Handelte es sich bei dem zu implantierenden Nagel um einen Fast-Nail, wurde zuvor sichergestellt, dass das Insert eingesetzt und korrekt positioniert war.

Indem der Assistent für eine Beugung des Knies sorgte, konnte der Nagel in einem nächsten Schritt unter leicht oszillierenden Bewegungen in die Markhöhle geschoben werden. Die korrekte Positionierung wurde sowohl distal als auch proximal durch Aufnahmen im C-Bogen überprüft. Es wurde ebenfalls darauf geachtet, dass der Nagel nicht in der Markhöhle verklemmt war, sondern vielmehr ein leichtes Spiel besass. Sasse der Nagel zu fest, wurde er wieder entfernt und der Kanal musste nachgebohrt werden.

### **3.5.3.4 Temporäre Fixierung des Marknagels**

Für die korrekte Fixierung kam die oben erwähnte Zielvorrichtung zum Einsatz. Während sich der Marknagel in der korrekten Position im Inneren der Tibia befand, halfen die zwei Seitenarme der Zielvorrichtung über die in ihnen befindlichen Hülsen dem Chirurgen die Schraublöcher im Korpus des Marknagels anzupeilen. Durch diese Hülsen wurde der Bohrdraht eingeführt der nun unter Durchbohrung des umliegenden Weichteilgewebes und des Knochens exakt die Löcher im Marknagel treffen sollte. Dieses für den Menschen entwickelte Zielsystem musste als Zugeständnis an die dickere Schafhaut durch eine kleine Massnahme ergänzt werden: Der Zugang zum



Knochen durch das Weichteilgewebe wurde durch einen kleinen, ca. 1cm langen, Skalpellschnitt durch die Haut erleichtert.

Detailliert führte der Chirurg in der Folge diese Schritte durch: Er setzte das Bohrfutter und den Trokar (Synthes® Kat.Nr. 03.010.099) in die mit dem Aufdruck DYNAMIC gekennzeichnete mediale Öffnung der Zielvorrichtung ein. Anschliessend wurde mit dem Trokar eine Stichinzision in den Knochen durchgeführt und der Trokar nach diesem Vorgang entfernt. Der Bohrdorn (Synthes® Kat.Nr. 03.010.061) wurde in die Bohrmaschine eingesetzt und die Bohrung durch das Bohrfutter durchgeführt (Abb.4). Dies geschah ebenfalls unter medio-lateraler C-Bogen Kontrolle, da vermieden werden musste mit dem Bohrdorn den massiven Korpus des Nagels anstelle des Lochs zu treffen. Die Bohrung ging dabei zunächst durch den medialen und dann durch den lateralen Kortex.

Um die Fixierung temporär zu halten, wurde in das Bohrloch anstelle einer Schraube ein eigens angefertigter Bolzen (Durchmesser 4mm) eingebracht. Dieser Bolzen entsprach vom Aussehen her dem einer gewindelosen Schraube. Anschliessend wurde der komplette Bohrprozess wie oben beschrieben, inklusive Verwendung des Trokars und des Bohrfutters durch die STATIC 1 gekennzeichnete Öffnung wiederholt und zum Schluss ebenfalls ein Bolzen eingebracht.

Da der Nagel distal ebenfalls mit zwei Schrauben fixiert werden sollte, mussten in der distalen Tibia auch Bohrungen durchgeführt werden. Der Bohrvorgang unterschied sich grundsätzlich nicht von demjenigen der beiden proximalen Löcher. Die Zielvorrichtung musste hierzu lediglich mittels einer speziell angefertigten Verlängerung am Einführungsgriff fixiert werden und war dann exakt auf die distalen Löcher ausgerichtet. Auch hier wurden die Bohrlöcher mit Bolzen versehen und der Nagel war nun an vier Stellen in der noch unversehrten Tibia fixiert.

Um die Osteotomie vorzubereiten wurde eine Standard OP-Klemme auf Höhe der bevorzugten Osteotomiestelle an die äußere Haut geklemmt und mit einer medio-lateralen Aufnahme die richtige Positionierung dieser „Markierung“ überprüft. Die Bolzen wurden anschliessend entfernt und der Marknagel über Zug an seinem Einführungsgriff wieder aus der Markhöhle gezogen.

### ***3.5.3.5 Durchführung der Osteotomie nach vorheriger Entnahme des Nagels***

Um zur Tibiadiaphyse zu gelangen wurde ein medialer Hautschnitt von ca. 10cm Länge durchgeführt. Zur Blutstillung und Präparation der Faszien diente ein Elektroauter bzw. Elektroskalpell. Anschließend wurden auf dem blanken Knochen mit dem Elektroauter oder einem Knochenmarker zwei Markierungen in der Längsachse des Knochens gesetzt. Diese sollten dazu dienen den Knochen nach der Osteotomie wieder genau auszurichten.

Zwei Hohmannhebel wurden von kranial und kaudal unter den freigelegten Tibiaschaft geschoben um das nahe liegende Weichteilgewebe während des Osteotomievorganges zu schützen.

Ziel der Osteotomie war es mit einem transversalen Schnitt eine genau 2,5mm dicke Knochenscheibe aus der Tibiadiaphyse zu sägen. Daher wurde als Instrument ein doppeltes, im Abstand von 2,5mm parallel verlaufendes , Sägeblatt (Synthes® Kat. Nr. 532.082s) gewählt und dieses in die Colibri Universal Akkumaschine (Synthes® Kat. Nr. 532.001) eingesetzt.

Der transversale Schnitt wurde auf Höhe der zur Markierung dienenden Klammer unter konstanter Spülung mit 0.9%er Kochsalzlösung durchgeführt (Abb.6).

In den entstandenen Osteotomie-Spalt wurde ein 2,5mm breiter Abstandshalter (Eigenbau) eingesetzt. Durch Verwendung zweier Knochenfazzangen und unter Beachtung der zuvor gesetzten Markierungen auf dem Knochen wurden das distale und das proximale Knochenende in einer möglichst physiologischen Stellung gehalten.

### **3.5.3.6 Endgültige Fixierung des Nagels**

So konnte direkt im Anschluss der Marknagel analog dem oben beschriebenen Vorgang in die Markhöhle zurückgeschoben werden. Alle vier Bolzen wurden wieder in die vorgebohrten Löcher gesteckt. Damit wurde sichergestellt, dass sich der Nagel wieder in der korrekten Position befand. Dann wurden, von proximal beginnend, die Bolzen einzeln durch Schrauben ersetzt. Zum Festziehen der Schrauben wurde der Schraubenzieher T25 (Synthes® Kat. Nr. 03.010.107) verwendet. Die erforderliche Länge der jeweiligen Schraube (Synthes® Kat. Nr. 04.005.4\*\*) wurde mittels einer Tiefenmesslehre bestimmt.

Nach erfolgter Fixierung aller vier Schrauben wurden die Positionierungshilfe sowie die Verbindungsschraube entfernt, und es wurde durch einen im Einführungsgriff befindlichen Kanal eine Verschlusskappe (Synthes® Kat. Nr. 04.004.00X) auf das proximale Ende des implantierten Marknagels geschraubt. Verwendet wurde hierzu der Schraubenzieher Stardrive T40 (Synthes® Kat. Nr. 03.010.110). Der Einführungsgriff wurde hiernach entfernt.

Eine letzte radiologische Kontrolle mit dem C-Bogen in zwei Ebenen sollte sicherstellen, dass die Schrauben korrekt positioniert waren.

Es folgte der Wundverschluss in drei Schichten, wobei für die fortlaufenden Faszien- und Intrakutannähte ein resorbierbarer Faden (Polyglactin 2.0 Vicryl® Johnson&Johnson Int, Brüssel, Belgien) Verwendung fand. Der Hauverschluss erfolgte mit einem Stapler (Auto Suture Appose ULC®, United States Surgical, Norwalk, USA).

## **3.5.4 Besonderheit in der Fast 2 Gruppe**

### **3.5.4.1 Einsetzen der Schraube**

Bei der zweiten Fast-Nail Gruppe sollte das Insert über einen Zeitraum von 8 Tagen durch eine zusätzliche Schraube (Synthes® Kat. Nr. 04.005.4\*\*) blockiert werden um die Dynamisierung erst zu einem späteren Zeitpunkt zu aktivieren.

Diese Schraube wurde im Anschluss an die Fixierung der vier Schrauben im Tibiaschaft in das schräge statische Loch (OBL1) im proximalen Ende des Nagels eingesetzt. Hierbei fand die Positionierungshilfe Verwendung, durch welche die Position des zu bohrendes Loches genau anvisiert werden konnte. Durch eine ca. 2cm lange Stichinzision konnte an dieser Lokalisation der darunterliegende Knochen freipräpariert werden. Dann wurde mit dem 3.2mm (Synthes® Kat. Nr. 03.010.100/103) Bohrer ein Loch durch beide Kortikales gebohrt und anschliessend die Schraube mit dem Schraubenzieher Stardrive T25 (Synthes® Kat. Nr. 03.010.107) eingesetzt. Der Wundverschluss erfolgte analog der oben beschriebenen Vorgehensweise.

### **3.5.4.2 Entfernen der Schraube**

Die Entfernung der Schrauben erfolgte 8 Tage nach der ersten Operation.

Die präoperativen Vorbereitungen sowie das Anästhesieregime entsprachen weitestgehend dem oben beschriebenen Ablauf. Abweichend dazu wurde aufgrund der Kürze des Eingriffes auf eine Epiduralanästhesie verzichtet, und das Schaf statt in Rückenlage in die rechte Seitenlage verbracht. Die aseptische Vorbereitung des OP-Feldes erfolgte wie oben skizziert.

Der nun folgende Eingriff bestand daraus, die Klammern sowie die Hautnähte über der Stichinzision zu entfernen und den Schraubenkopf freizulegen. Die Formelemente des Schraubenkopfes wurden zunächst vom Weichteilgewebe gereinigt und die Schraube konnte anschließend mit dem Schraubenzieher Stardrive T25 (Synthes, Kat. Nr. 03.010.107) heraus gedreht werden. Die Wunde wurde anschliessend wieder mit Klammern (Auto Suture Appose ULC®, United States Surgical, Norwalk, USA) verschlossen.

## **3.6 Postoperatives Management**

### **3.6.1 Postoperative Röntgenbilder**

Die ersten postoperativen Röntgenbilder wurden am anästhetisierten Schaf direkt nach erfolgtem Wundverschluss angefertigt. Zur Dokumentation der

postoperativen Entwicklung intra vitam wurden weitere Röntgenbilder jeweils nach 3, 6, 7 und 8 Wochen geschossen. Um Transportstress zu vermeiden und das Verletzungsrisiko für die Tiere möglichst gering zu halten, wurden die Aufnahmen mit einem mobilen Röntgengerät (Diagnostic Xray Unit, Model orange 8016 HF, raymed medical x-ray, Düringen, Schweiz) in den Stallungen geschossen. Zum Einsatz kamen hierzu digitale Röntgenplatten (35.4 x 43.2cm bzw. 25.7 x 30.5 cm, IP Cassette 3A, Fuji Photo Film Co. Ltd, Japan) auf welche die Tibia idealerweise zusammen mit Knie- und Tarsalgelenk in zwei Ebenen (kranio-kaudal: 66kV, 2,4 mAs sowie medio-lateral: 64 kV, 2,5 mAs) projiziert wurde. Obwohl üblicherweise in der Veterinärmedizin die Bezeichnungen kranial und kaudal an der Gliedmasse verwendet werden, haben wir aufgrund des human-medizinischen Implantates bei der Erstellung der Radiographien oftmals die human-medizinischen Lagebezeichnungen anterior und posterior synonym mit kranial und kaudal verwendet.

Für den eigentlichen Röntgenvorgang wurde das zu röntgende Schaf von einer sitzenden Hilfsperson vorsichtig fixiert und der Castverband vor dem Röntgen entfernt und anschliessend erneuert. Während der Entwicklung der Bilder wurde aus Zeitgründen bisweilen die erste Watteschicht des Verbandes bereits angelegt um die Zeit, welche das Schaf im Sitzen verbringen musste, möglichst gering zu halten. Mussten Aufnahmen wiederholt werden, ist dann mitunter die Watteschicht zu sehen. Beim Handling wurde mit Halsbändern gearbeitet um ein Rennen der Tiere zu verhindern.

### **3.6.2 Cast Verband**

Um die frischoperierte Gliedmasse vor übermässiger Krafteinwirkung zu schützen, wurde den Schafen ein Cast-Verband angelegt. Das Anlegen des ersten Verbandes erfolgte direkt im Anschluss an das postoperative Röntgen. Die nächsten Verbandswechsel erfolgten in der 3. bzw. in der 6. Woche post-

OP. Ab der 6. Woche erfolgte der Verbandswechsel dann wöchentlich bis zur 9. Woche, in welcher die Schafe dann geschlachtet wurden.

Beim Anlegen des Verbandes wurden die frischen Wundnähte mit einer Wundabdeckung (Mesorb®, Mölnlycke Health Care AB, Göteborg, Schweden) geschützt. Dann wurde die Gliedmasse von der Klaue bis über das Kniegelenk mit einem Watteverband (Flawa® Pressrollwatte, FLAWA AG, Flawil, Schweiz) gepolstert. Besonders druckempfindliche Stellen wie der Zwischenklauenspalt und die Beugesehnen wurden mit zusätzlichen Polstern aus Watte versehen. Es folgte die Fixierung der Verbandswatte mittels elastischer selbsthaftender Binde (Elastomull® Haft, BSN medical GmbH & Co, Hamburg, Deutschland). Vor dem Anlegen der Cast-Binden (Scotch Cast®Plus, 7,6cm, Laboratoires 3M Santé, Frankreich) wurde der Verband mit Krepppapierbinden (Cello-Crépe®, IVF Hartmann AG, Neuhausen, Schweiz) umwickelt um ein leichteres Ablösen des Castes beim Verbandswechsel zu gewährleisten. Zuletzt wurde der gehärtete Cast mit einer schützenden Pflasterbinde (Isoelast®, IVF Hartmann AG, Neuhausen Schweiz) versehen, sowie mit einer „Sohle“ aus wasserabweisenden Klebeband (Tesa®, AG, Hamburg, Deutschland) versehen.

### **3.6.3 Aufwachphase und Hängesystem**

Nach der Versorgung mit einem Cast-Verband wurde das Schaf noch auf dem Operationstisch in ein spezielles Hängesystem (Eigenanfertigung, entwickelt durch Ruedi Keller, Equine Hospital, Rescue group, Vetsuisse-Fakultät Zürich) gelegt, extubiert und in Seitenlage in die nahegelegenen Stallungen transportiert. Das Schaf wurde in der Aufwachphase bis zur vollen Orientierung betreut und überwacht. Sobald das Tier motorisch in der Lage war zu stehen, wurde das Hängesystem angezogen und das Schaf so in eine kontrollierte Stehposition verbracht. Die Schafe wurden sieben Tage post-OP in dem Hängesystem belassen. Dies diente dazu ein Hinlegen und Aufstehen des

Schafes, welches mit massiver Belastung der Gliedmasse einhergeht, initial zu unterbinden.

#### **3.6.3.1 Besonderheiten der zweiten Fast-Nail Gruppe**

Die postoperative Überwachung erfolgte bei den Tieren nach der zweiten Operation wie oben beschrieben. Da bei dieser kurzen Operation lediglich eine Schraube entfernt wurde, waren die Schafe nach kurzer Zeit wieder voll orientiert, wurden aber sicherheitshalber für die Dauer von einem Tag im Hängesystem belassen.

#### **3.6.4 Medikation**

Am OP-Tag wurde die Analgesie nach der Prämedikation durch zwei weitere Buprenorphin Injektionen (0,01/kg KGW i.m., Temgesic®, Essex Chemie, AG; Luzern; Schweiz) im Abstand von jeweils vier Stunden aufrechterhalten und in den folgenden drei Tagen durch die intravenöse Gabe von Carprofen (4mg/kg KGW i.v., Rimadyl®, Pfizer AG, Zürich, Schweiz) ergänzt. Antibiotisch wurden die Tiere über den gleichen Zeitraum hinweg mit Benzylbenicillin (35000 I.E./kg KGB i.v., (b.i.d); Penicillin Natrium Streuli ad. us. vet.; G. Streuli & Co AG, Uznach, Schweiz) sowie Gentamicin (4mg/kg KGW i.v., (s.i.d); Vetagent® Veterinaria AG, Zürich; Schweiz) versorgt.

##### **3.6.4.1 Besonderheiten der Medikation bei der zweiten Fast-Nail Gruppe**

Bei der Fast 2 Gruppe konnte aufgrund des minimalen Eingriffes und der damit einhergehenden geringen Schmerzhaftigkeit auf eine ausgedehnte Analgesie verzichtet werden, zudem eine Vergleichbarkeit der Gruppen gewährleistet bleiben musste. Die Tiere erhielten daher lediglich eine Gabe Carprofen und Buprenorphin und Antibiose mit Benzylpenicillin und Gentamicin über drei Tage (Präparate identisch mit den oben aufgeführten.)

### **3.6.5 Fluoreszenzinjektion**

Durch die Applikation dreier verschiedener Fluorochrome (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buchs, Schweiz) wurde die Darstellung der Mineralisationsaktivität im Frakturspalt zu verschiedenen Zeitpunkten ermöglicht.

Hierzu erhielten die Schafe drei Wochen post-Op Calcein-Grün (5 mg/kg KGW, s.c.) sowie sechs Wochen post-Op Xylenol-Orange (90 mg/kg KGW, s.c.). Zwei Tage vor der Schlachtung 9 Wochen post-Op erfolgte die letzte Fluorochrom-Gabe in Form von Oxytetracyclin (Engemycin 25 mg/kg KGW).

### **3.7 Schlachtung und Probengewinnung**

Die Schafe wurden neun Wochen nach der Operation in die Schlachthalle des Tierspitals transportiert und dort mit einem Bolzenschuss betäubt und durch Blutentzug getötet.

Im Anschluss daran erfolgte die Entnahme der Tibiae beider Seiten. Das Weichteilgewebe wurde unter Schonung des Periostes von den Knochen herunter präpariert. Anschließend wurde der Knochen zur Dokumentation von allen Seiten fotografiert.

Um eine bessere Detailzeichnung zu erlangen wurden die dann folgenden postmortalen Röntgenbilder im Faxitron (55kV, 1s, Cabinet x-ray faxitron series, model 43855 A; Hewlet Packard, Oregon, USA) angefertigt. Es wurde zunächst eine Aufnahme der Tibia mit dem noch implantierten Nagel geschossen und der Nagel anschließend entfernt. Dazu wurden die Schrauben sowie die Verschlusskappe gelöst und herausgedreht, um dann den Schraubgriff anstelle der Verschlusskappe in das proximale Ende des Nagels drehen und diesen so herausziehen zu können. Die spezielle Einkerbung des Hammers (Synthes® 03.010.056) ermöglichte eine Hammerbewegung in Zugrichtung des Schraubkopfes und bot so eine Unterstützung des Lösevorganges. Nach so erfolgter Lockerung liess sich der Nagel herausziehen.



Die von sämtlichen Implantaten befreite Tibia wurde anschliessend noch einmal mit den gleichen Spezifikationen im Faxitron geröntgt.

### **3.8 Probenaufbereitung**

Die histologische Präparation begann mit der Entwässerung der Knochen mittels einer aufsteigenden Alkoholreihe. Der beschriftete Knochen wurde hierzu in ebenfalls genau beschriftet, und zum Schutze der Fluoreszenzfarbstoffe in lichtundurchlässige Gläser verbracht. Die Gläser wurden dann nach einem Laborprotokoll zu definierten Zeiträumen mit verschieden hoch-konzentriertem Alkohol gefüllt und die Knochen so darin eingelegt:

- 7 Tage in 40%igem Alkohol

- 2x24h in 50%igem Alkohol

- 2x24h in 70%igem Alkohol

In diesem Stadium der Alkoholreihe wurde die  $\mu$ CT -Testung durchgeführt und die Reihe anschliessend fortgesetzt

- 2x24h in 80%igem Alkohol

- 1x24h in 90%igem Alkohol

- 1x24h in 96%igem Alkohol

- 4 x 24h in 100 %igem Alkohol

- 1x24h in Xylol im Vakuum

- 1x72h in Xylol im Vakuum

Zur Herstellung der alkoholischen Lösungen kamen entionisiertes Wasser sowie 100%iger Alkohol (Ethanol, KA; Kantonsapotheke Zürich, Schweiz) zum Einsatz. Mit dem Einlegen in Xylol (Xylol, KA, Kantonsapotheke Zürich) sollte das Präparat entfettet werden. Zugleich dient Xylol als Intermedium um vom Alkohol ins Metacrylat zu gehen, da Xylol in beiden Medien löslich ist und so die Proben besser infiltriert werden konnten.

Die so vorbereiteten Proben wurden nun in flüssiges MMA (Methylmetacrylat) verbracht und im Vakuum bei 4° Celsius aushärten. Für die Herstellung des MMA wurden die drei Substanzen Methacrylacid-Methylester (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz), Dibutylphthalat (Merck-Schuchardt® OHG, Hohenbrunn, Deutschland) und Perkadox 16 (Dr. Grogg Chemie AG, Stetten, Schweiz) im Verhältnis 89,5:10:05 mit Hilfe eines Magnetrührers vermischt. Nach frühestens einer Woche konnten die Proben in luftdichte sowie lichtundurchlässige Plastikgefäße überführt und diese in einem Kühlschrank bei 4° Celsius eingelagert werden. Das MMA verfestigte sich in den folgenden Wochen langsam. Der Behälter wurde, sobald das MMA zähflüssig wurde, zur Beschleunigung des Vorganges in ein Wasserbad gestellt. Fest ausgehärtete Proben wurden in den Wärmeschränk bei 37,5° Celsius verbracht und dort vollständig ausgehärtet. Durch diesen Vorgang polymerisierte das MMA möglichst gleichmässig zu PMMA (Polymethylmethacrylat).

### **3.9 Anfertigung der Schnitte**

Um der makroskopischen Diversität der erhaltenen Kallusformationen Rechnung zu tragen wurden drei Schnittebenen durch den Kallus festgelegt. Die Schnittführung erfolgte latero-lateral median durch den Tibiaschaft sowie 0,5cm paramedian zu beiden Seiten. Der PMMA Block mit der eingegossenen Tibia wurde hierzu in die Exakt Bandsäge (EXAKT® Band System 300/301, Exakt Apparatebau GmbH & Co KG, Norderstedt, Deutschland) eingespannt. Danach sägte man aus der Medianen jeweils zwei Dickschnitte (600-700µm) sowie aus den Paramedianen jeweils einen Dickschnitt. Pro Block und Tibia ergaben sich so vier Dickschnitte, wovon drei zur Oberflächenfärbung, und einer der doppelten Schnitte durch die Mittelebene zur Herstellung von Fluoreszenzschnitten vorgesehen waren. Nach dem Sägevorgang wurden die Schnitte zunächst mit 70%igem Alkohol gesäubert, und dann mit Zellstoff umwickelt, zur Trocknung und Glättung unter Metallgewichte gelegt.

Später wurden von allen Dickschnitten mit Ausnahmen der Fluoreszenzschnitte mit Hilfe des Faxitron (55 KV, 11 s (999s), Cabinet x-ray-faxitron series, model 43855 A, Hewlet Packard, Mc Minnville Division, Oregon, USA) Mikroradiographien angefertigt.

Die für die Fluoreszenzauswertung vorgesehenen Nativschnitte wurden mit einem Klebstoff (Cementit® Ca 12, Merz + Benteli AG, Niederwangen, Schweiz) auf einem gläsernen Objektträger fixiert, wohingegen die zu färbenden Dünnschnitte auf einen Acrylglasträger (Perspex® GS Acrylglas Opal 1013, Wachendorf AG, Basel, Schweiz) geklebt wurden.

Letztere Schnitte wurden dann mit einer Maschine (EXAKT® Mikroschleifsystem 400 CS, Exakt Apparatebau GmbH, Norderstedt, Deutschland) geschliffen und ihre Oberfläche anschließend mit Färbelösung (1%ige Toluidinblau-O-Lösung mit 0,1 mol Phosphatpuffer pH 8,0) koloriert.

### **3.10 Biomechanische Testung**

Mit der biomechanischen Testung mittels einer servo-hydraulischen Testmaschine wurden die Reparaturvorgänge am Knochen auf ihre Torsionssteifigkeit hin untersucht. Hierzu wurden beide Tibiae der jeweils geschlachteten Versuchsschafe in das mit der Testung beauftragte biomechanische Institut (Prof. Stephen Ferguson, Laboratory for Orthopedic Technology, ETHZ) verbracht. Einem Austrocknen der Knochen wurde entgegen gewirkt, indem man zum Zeitpunkt der Explantation die Präparate mit getränkten Gazetüchern (9% NaCl Lösung) umwickelte und den Knochen somit feucht hielt.

Anschliessend musste bei allen Tibiae die Tuberositas Tibiae mittels einer Handsäge soweit abgesetzt sein, dass eine möglichst achsengerade Einbettung des Knochens in eine proximal sowie eine distal ansetzende Zylinderform ermöglicht werden konnte. Zusätzlich wurde an den einzubettenden Knochenenden mit einer handelsüblichen Bohrmaschine jeweils zwei

gegensätzliche Bohrlöcher gesetzt in welche zwei Stahlschrauben eingeschraubt wurden. So sollte die Stabilität des zu testenden Knochens im Einbettungszyylinder zusätzlich erhöht werden.

Die beiden Zylinder, sowie die in diesen befindlichen vier Stellschrauben (Abb. Im Anhang), wurden mit Handcreme eingefettet, um so eine zu feste Verbindung der Formen mit dem Einbettungsmedium zu verhindern. Dann wurde zunächst das proximale Ende der Tibiae zunächst in einen der Zylinder eingesetzt, dann mittels der Stellschrauben fixiert und der Knochen möglichst senkrecht ausgerichtet.

Daraufhin wurde unter einer Abzugshaube dieser erste Einbettungszyylinder mit einer definierten Menge Polymethylmetacrylates (PMMA) befüllt und über eine halbe Stunde zur Aushärtung stehen gelassen. Erst dann wurde die erste Form mittels eines Stabes mit der zweiten Form verbunden, diese über das distale Ende der Tibia gesetzt und in der Folge diese Form ebenfalls mit der gleichen Menge PMMA aufgefüllt und über den gleichen Zeitraum ausgehärtet. Zwischen den Arbeitsschritten wurde der Knochen mit nassen Gazetupfern feucht gehalten.

Zum eigentlichen Testvorgang wurden beide Zylinder in eine servo-hydraulische Testmaschine eingesetzt (Instron® Electro Puls, High Wycombe, UK) und über vertikale Pins fixiert. Die freie Bewegung der Pins stellte dabei sicher, dass eine torsionale Drehung durchgeführt werden konnte ohne gleichzeitig das Testobjekt substantiell zu komprimieren.

Beim Testvorgang wurden die Zylinder und somit auch der zwischen beiden Zylindern fixierte Knochen mit einer axialen Vorlast von 20N und mit einer konstanten Winkelgeschwindigkeit ( $5^\circ/\text{min}$ ) gegeneinander bis zum Erreichen des Bruchpunktes verdreht. Bestimmt wurden hierbei die Torsionskraft (Nm), Rotationsverdrängung ( $^\circ$ ) und die Kompressions/Zugfestigkeit (N) bei einer Laufgeschwindigkeit von 20 Hz. Die Daten wurden digital gespeichert. Der Bruchpunkt ist hierbei definiert als erster Punkt, in welchem in der

Drehmoment/Winkel Kurve ein scharfer Abfall registriert werden kann. Die Rotation des Knochens wurde über den Bruchpunkt hinweg noch über fünf weitere Grade ( $5^\circ$ ) fortgesetzt, um auch Daten über die „post-failure-response“ (Verhalten nach dem Bruch) zu erhalten.

Durch die Testung sowohl gesunder und als auch operierter Tibia eines Schafes konnte die Torsionssteifigkeit beider Seiten prozentual ins Verhältnis gesetzt werden.

Nach erfolgter Testung wurden die eingebetteten Enden der Tibiae mittels der Handsäge abgesetzt und der Tibiaschaft mit der Kallusregion somit isoliert. Um an dem isolierten Tibiafragment die Orientierung zu erleichtern, wurde nahe dem proximalen Rande eine kleine Kerbe gesägt. Abschliessend konnte das Knochenstück zur Vorbereitung auf die Histologie in 40%-igen Alkohol eingelegt werden.

Getestet wurden die operierten Tibiae aller 18 Schafe, sowie zum Vergleich die gesunden Tibiae. Insgesamt wurden also 36 Testungen durchgeführt.

Zur Analyse der Daten wurde die Rohdaten von der Instron Maschine mit dem Computerprogramm Mathlab 8.0 (Mathworks, Natick USA) gefiltert und anschliessend zur Analyse in eine Tabelle überführt (Excel®, Microsoft Office). Die Torsionssteifheit ( $\text{Nm}/^\circ$ ) wird dabei mittels einer linearen Regression bestimmt und dann wurde ein Datenbereich gewählt, der einen Regressions-Koeffizient von  $r^2 > 0,995$  lieferte. Das Bruch-Moment ( $\text{Nm}$ ) wurde als der Wert definiert, der im Maximum auf der Moment/Winkel Kurve direkt vor dem ersten Abfall erreicht wurde.

Der Test lieferte somit Resultate für die Torsions-Steifigkeit und das Drehmoment. Durch die Testung beider Tibiae konnte die ermittelten Werte für die operierte Tibia in Relation zu den Werten der gesunden Gliedmasse gesetzt werden. Die Signifikanz beider Parameter wurde mit einer einseitigen Kruskal-Wallis Analyse für niedrige Probenanzahlen und einem Dunn's post-hoc-Test

bestimmt (GraphPad Prism 5.0b). Ein p-Wert von  $< 0,05$  wurde als signifikant erachtet.

### **3.11 Histologische Auswertung**

#### **3.11.1 Digitalisierung der Dickschnitte**

Um eine computer-gestützte Auswertung der Toluidinblau gefärbten Dickschnitte zur ermöglichen, wurden diese zunächst digitalisiert. Hierzu wurden die Dickschnitte mit Hilfe eines Makroskops (Leica M420®, Leica-microsystems, Heerbrugg, Schweiz) vergrößert und über die auf dem C-Mount montierte Digitalkamera (Leica DC 200®) abfotografiert.

Mittels korrespondierender Software (Leica IM 1000®) wurden die so erhaltenen Bilder im TIF-Format gespeichert.

#### **3.11.2 Histomorphometrische Auswertung der Dickschnitte**

Zur Bestimmung der quantitativen Verteilung der Gewebefraktionen wurden die digitalisierten Schnitte zunächst mittels eines Bildbearbeitungsprogramm (Adobe® Photoshop® Elements 6.0) redigiert.

Der Aufnahmebereich der Digitalkamera gab hierbei einen einheitlichen Bereich vor in welchem die dort befindlichen Gewebe eingefärbt wurden. Hierbei wurde jedem Gewebetyp eine Farbe zugeordnet:

Alte Knochenstruktur = hellblau

Neu gebildete Knochenmatrix = dunkelgrün

Granulationsgewebe = pink

Knorpelgewebe = gelb

Hintergrund = beige

Siehe hierzu die Abbildung X. im Anhang.

Über das Auswertungsprogramm ImageJ (Lizenzfreie Software, Entwicklung durch Wayne Rasband, Research Services Branch, National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA) wurde anschliessend quantitativ die Fläche der verschiedenen Gewebefraktionen bestimmt. Danach konnten mit Hilfe von

Excel© die prozentualen Anteile der vier Gewebefraktionen in Relation zu ihrer Gesamtsumme berechnet werden.

### **3.11.3 Digitalisierung der Fluoreszenzschnitte**

Um die Fluoreszenzschnitte zu digitalisieren wurden ein Mikroskop (Leica DM 6000B®, Leica CTR 6000®) mit angeschlossener Digitalkamera (Leica DFC 350FX®) und einem dazugehörigen Softwareprogramm (LAS AF 6000®) mit „Stitching“-Funktion verwendet. Durch die „Stitching“ Funktion wurde der Fluoreszenzschnitt in definierte Planquadrate unterteilt, welche als Einzelbilder aufgenommen und anschliessend im TIF-Format zu einem Gesamtbild zusammengefügt wurden. Um die Gewebeaktivität zum Zeitpunkt der Fluoreszenzinjektion darzustellen, wurden die Aufnahmen durch drei verschiedene Farbfilter geschossen.

Es kamen die Filter L5 für Calcein-Grün, N3 für Xylenol-Orange und D für Oxytetracyclin der Firma Leica® zum Einsatz.

### **3.11.4 Qualitative Beurteilung der Fluoreszenzschnitte**

Bei der Auswertung der Fluoreszenzschnitte wurde berücksichtigt, dass mit den Mikroradiographien und den histologischen Schnitten noch zwei weitere segmentale Kallusschnitte zur Analyse vorlagen, welche sich in bestimmten Bewertungskriterien (Kallusform, Kallusverteilung u.a.) miteinander ergänzten. Es wurde bei der Beurteilung der Fluoreszenzschnitte daher spezifisch auf die Verteilung der fluorochromatischen Aktivität geachtet und damit auf deren zeitlichen Verlauf.

Durch die Zusammenlegung der drei Fluoreszenzbilder liess sich ein Schichtungsmuster erkennen und beurteilen.

### **3.11.5 Quantitative Beurteilung der Fluoreszenzschnitte**

Um die Einschätzung der Kallus-Performance um einen weiteren Parameter zu ergänzen, wurden die fluoreszierenden Bereiche mit einem

Bildbearbeitungsprogramm (Adobe® Photoshop® Elements 6.0) angefärbt. Dadurch war eine Quantifizierung der verschiedenen Farben mit dem Programme ImageJ möglich. Bei jedem Bild wurde mit Hilfe eines Bildbearbeitungsprogrammes (Adobe® Photoshop® Elements 6.0) ein identischer Bereich, (6x9inch) welcher der Osteotomiestelle in seinem Zentrum umfasste, ausgeschnitten und so eine Standardisierung erreicht.

Dann wurden den fluoreszierenden Bereichen folgende Farben zugeordnet:

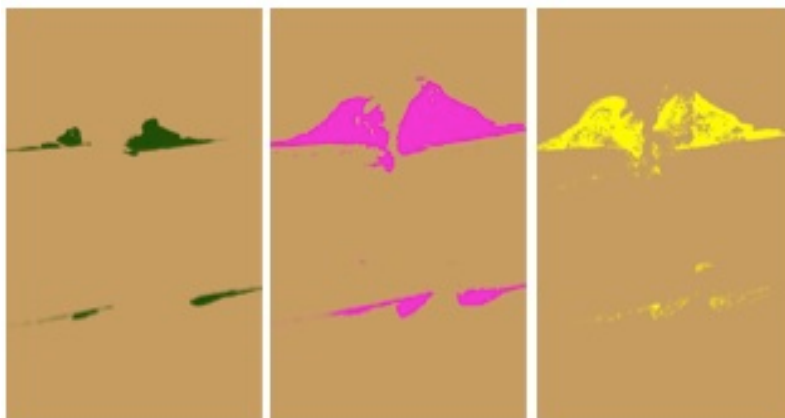
Calcein Grün (3 Wochen) = dunkelgrün

Orange (6 Wochen) = pink

OTC (9 Wochen) = gelb

Der Hintergrund wurde einheitlich in beige eingefärbt.

Über das Auswertungsprogramm ImageJ wurde dann die genaue Quantität der fluoreszierenden Bereiche bestimmt und anschliessend wurden mit Hilfe von Excel die prozentualen Anteile der Bereiche in Relation zum Gesamtausschnitt berechnet. Siehe hierzu Abb.1 und Abb. 20-22 im Anhang.



**Abb.1: Beispiele für die Anfärbung der fluoreszierenden Bereiche mit Hilfe von Adobe Photoshop; Calcein Grün = dunkelgrün, Xylenol Orange = pink, Oxytetracyclin = gelb**



### **3.12 Radiologische Auswertung**

#### **3.12.1 $\mu$ -CT Untersuchung**

Mit der Durchführung der  $\mu$ -CT Untersuchungen wurde die b-cube AG/Scanco (Brüttisellen, Schweiz) beauftragt.

Die in der aufsteigenden Alkoholreihe befindlichen Proben wurden zum Zeitpunkt ihres Aufenthaltes im 70%igem Alkohol mit einem Mikro-Computer-Tomographen ( $\mu$ CT 80, Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz) gemessen. Die Röntgenröhre des Gerätes wurde mit 70 kVp Energie betrieben und die Belichtungszeit war auf 200ms eingestellt. Zum Ausschluss von Messungenauigkeiten wurden alle Projektionen zweimal wiederholt und dann gemittelt. Die Intensität betrug 114  $\mu$ A und die Messungen wurden mit einer isotropen nominalen Auflösung von 49,2  $\mu$ m aufgenommen. Mittels eines dreidimensionalen Gaußschen Filters wurde das in den so erhaltenen Datensätzen vorhandene Rauschen reduziert. Eine anschliessende Segmentierung der Bilder ermöglichte eine Abgrenzung von Knochen zum Hintergrund.

Für die Analyse der Dichte des Knochenvolumens wurden Bereiche mittels verschiedener „Masken“ (=dreidimensionaler Schablonen) abgegrenzt. Nachdem zwei der Schablonen manuell erstellt wurden, dienten sie als Basis für die restlichen Schablonen. Die erste Schablone wurde mit „Rumpf-Maske“ betitelt, da sie den Umriss des Knochenrumpfes nachvollzog. Die zweite Schablone, die „Spalt-Maske“, stellte einen Zylinder mit einer Höhe von 5,4mm dar, welcher in den Frakturspalt zentriert worden war. Weitere interessierende Volumen (volumes of interest = VOI) wurden von diesen Masken abgeleitet. Zum einen das VOI 1, welches dem Überschneidung von Rumpf- und Spaltmaske entsprach, VOI 2, welches alles innerhalb der äusseren Kontur der Rumpfmaste umfasste, sowie VOI 3, welches die Überschneidung zwischen der Rumpfmaste und VOI 2 darstellte. Innerhalb dieser VOIs wurden die folgenden morphometrischen Indices bestimmt:

TV = Totales Volumen der Maske

BV = Bone Volume = Knochenvolumen in mm<sup>3</sup>

BV/TV = Dichte des Knochenvolumens.

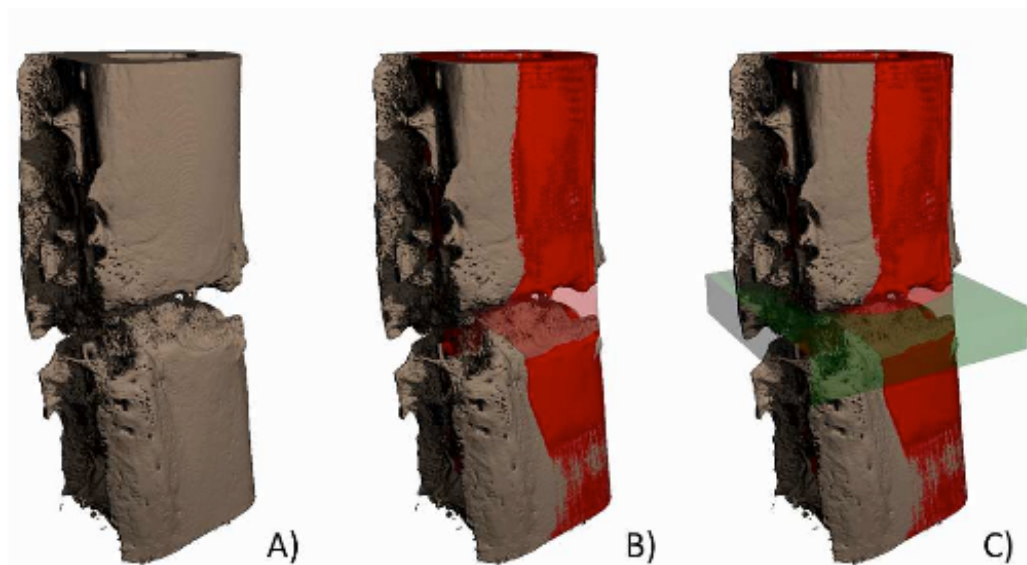


Abb.2: A.) Knochen B) Knochen in grau und die Rumpfmassage zusätzlich in semitransparent rot C.) Zusätzlich Spaltmaske in semitransparent grün eingefügt

Die so erhaltenen Daten wurden unter Berücksichtigung der drei Gruppen in Kastengrafiken (Boxplot) mit Mittelwert und Standardabweichung dargestellt. Auf Signifikanzen wurde mit einem Wilcoxon Test geprüft. Ein Wert von  $p < 0,05$  wurde dabei als signifikant erachtet.

### 3.12.2 Auswertung der Radiographien

Die Beurteilung der Röntgenbilder erfolgte durch den Projektleiter und einem projekt-unbeteiligten Spezialisten (Dr. Marc Flückiger, Diagnostic Imaging, Diplomate of the ECVR). Bewertet wurde dabei mit einem semiquantitativen Scoresystem. Die Röntgenbilder wurden auf dem Bildschirm auf dem „Dicom

Viewer“ betrachtet, so dass die Auswerter die Möglichkeit besaßen bei Bedarf Justierungen an der Helligkeit vorzunehmen oder Ausschnitte zu vergrößern. Auf dem Auswertungsbogen wurden folgende Variablen, jeweils in beiden Ansichten (kranio-kaudal (bei uns synonym verwendet: anterior-posterior) und medio-lateral) erfasst.

**Tab.2: Bewertungstabelle für die qualitative Auswertung der Radiographien**

Variable	Bewertungskriterium	Punktzahl
Kortikale Kallusbildung	Keine sichtbare Kallusbildung	0
	Kallus reicht nicht in den Defekt	1
	Kallus überbrückt den Defekt zu <50%	2
	Kallus überbrückt den Defekt zu >50% aber < 100%	3
	Defekt komplett von Kallus überbrückt	4
Dichte des Kallus	Dichte von Weichteilgewebe	0
	<50% der Dichte von normalem Knochen	1
	> 50-100% von normalem Knochen	2
	> 100% (Superimposition)	3
Remodeling an den Frakturenden	Nein	0
	Ja	1
	Resorption	-1

**Tab.2: Bewertungstabelle für die qualitative Auswertung der Radiographien**  
(Fortsetzung )

Variable	Bewertungskriterium	Punktzahl
-Prox. fragment	Ja	0
	Nein	1
-Dist. fragment	Ja	0
	Nein	1
Ausdünnung der distalen Kortex (nur auf mediolateraler Aufnahme beurteilbar)		
	Ja	0
	Nein	1

Den auswertenden Personen war die Gruppenzuordnung nicht bekannt.

### 3.12.3 Auswertung der Mikroradiographien

Die Mikroradiographien wurden qualitativ ausgewertet und im direkten Vergleich mit dem korrespondierenden Toluidinblau-Dickschnitt sowie dem Fluoreszenzschnitt visuell verglichen und dabei wurde besonders auf die Ausrichtung der Fragmente zueinander, das Vorliegen von Fissuren und den Abstand der Fragmente zueinander geachtet.

### 3.13 Statistische Analyse

Für die statistische Analyse der gewonnenen Werte wurde ein kommerziell erhältliches Statistikprogramm (SPSS® Base für Mac OS X, Version 19.0, Chicago, Illinois) verwendet.

Die quantitativen Daten der biomechanischen Testung, der Histomorphometrie, des  $\mu$ -CT und der Fluoreszenzbilder wurden einer faktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen. Hierbei wurden die Daten der deskriptiven Statistik (Mittelwerte und Standardabweichungen) ermittelt. Die Post Hoc Tests wurden nach Bonferroni durchgeführt. Ein p-Wert < 0,05 wurde hierbei als statistisch

signifikant eingestuft. Die Korrelationen wurden nach Pearson ermittelt, auch hier galt ein  $p$ -Wert  $< 0,05$  als statistisch signifikant.

Zur Auswertung der Röntgenverlaufsuntersuchungen wurden die semiquantitativen Daten aus der Beurteilung der Radiographien einer Varianzanalyse mit Messwiederholungen unterzogen (ANOVA for repeated measures). Abschliessend fand ein Gruppenvergleich nach ANOVA statt. Auch bei diesen beiden Auswertungen galt der  $p$ -Wert  $< 0,05$  als statistisch aussagekräftig.

## **4 Resultate**

### **4.1 Operation**

Die Operation zum Zwecke der Osteotomie und der Marknagelung verlief in allen 18 Fällen ohne grössere Komplikationen. Kleinere Komplikationen waren, dass bei Schaf 17.05 aufgrund einer sehr dünnen Kortex die Markhöhle etwas zu weit aufgebohrt wurde. Ebenfalls wurde bei Schaf 17.08 die unterste Schraube auf der proximalen Seite etwas überbohrt. In Bezug auf die Narkose verliefen die Operationen komplikationsfrei.

Die sechs Operationen der Fast 2 Gruppe, in denen die schräge Blockierungsschraube entnommen wurde, verliefen plangemäss, ebenso wie die dazugehörige Anästhesie.

### **4.2 Postoperative Phase**

Die Aufwachphase verlief bei den meisten Tieren problemlos. Schaf 17.03 zeigte in der direkten Aufwachphase ein vermeintliches Unvermögen sich aufzurichten, was sich jedoch nach einer kurzen Zeit normalisierte. Schaf 17.18 zeigte in der Aufwachphase Muskelkrämpfe und wurde mit Diazepam (Valium®, Roche Pharma AG, Reinach, Schweiz) behandelt, woraufhin sich der Zustand rasch besserte. Die Tiere zeigten eine rasche Adaptation an das

Hängesystem. Bei einigen Tieren war kurzzeitig (<2 Tage) eine geringgradige Inappetenz festzustellen, welche jedoch bald überwunden war.

Die operierte Gliedmasse im Cast-Verband wurde bei allen Tieren schon innerhalb der ersten Woche post-OP wieder voll belastet. Wenn die Tiere in Stresssituationen bzw. bei Manipulationen (Futter- und Medikamentengabe), Fluchtversuche unternahmen, konnte beobachtet werden, dass die Tiere versuchten die Hinterhand beidseitig einzusetzen. Das Hängesystem verhinderte zwar, dass sich die Tiere ablegen konnten, aber diese teils heftigen Belastungen der frisch operierten Gliedmasse waren nicht zu vermeiden.

Schaf 17.04 zeigte drei Wochen post-OP eine Lahmheit, die sich in einer steifen seitlichen Streckung der Gliedmasse äusserte. Das Tier wurde zunächst über zwei Wochen mit fünfmaliger Applikation mit B-Neuron (B-Neuron ad.us.vet, Vetoquinol AG) Lösung behandelt. Die Lahmheit stagnierte. Etwa ab der 6. Woche post-OP verschlimmerte sich die Lahmheit wieder. Nachdem bei der Palpation das Kniegelenk schmerzhaft erschien, wurde in Kombination mit der planmässigen Röntgendokumentation auch das Kniegelenk radiologisch untersucht. Im Röntgenbild zeigte sich eine kalzifizierende Zubildung im Kniegelenk oberhalb der Eintrittsstelle des Nagels. Das Tier erhielt daraufhin zweimal subkutan Carprofen gespritzt.

Unter Einfluss der Analgesie besserte sich die Lahmheit und das Tier belastete die Gliedmasse bis zum Schlachttermin normal.

### **4.3 Probengewinnung und Schraubenfestigkeit**

Die Entfernung der Implantate erfolgte ohne wesentliche Komplikationen. Bei zwei Tieren (17.04 und 17.14) der Fast 1 Gruppe war die Verschlusskappe des Nagels stark eingewachsen und mit Kallus bedeckt. Hinsichtlich der Festigkeit der Schrauben beim Herausdrehen liess sich keine klare Gruppentendenz festmachen. Wie aus der vergleichenden Auswertung hervorgeht, waren es vor allem die beiden proximalen Schrauben, die Probleme machten (8 von 18

Schafen zeigen Abweichungen). Die proximalste Schraube war bei Auffälligkeiten tendentiell eher zu fest (7 von 8 Fällen), die darunterliegende Schraube hingegen tendentiell eher gelockert (5 von 8 Fällen). Am auffälligsten war die vollständige Lockerung der beiden proximalen Schrauben aus der Trans-Kortex bei Schaf 17.20 (Fast 2). Da bei den anderen Tibiae derselben Gruppe die beiden proximalen Schrauben keine analogen Tendenzen zur Lockerung aufwiesen, kann nicht von einer Nebenwirkung der axialen Bewegung ausgegangen werden. Eine mögliche Erklärung kann bei Betrachtung der Röntgenaufnahmen in der anterior-posterior Ebene gefunden werden. Trotz korrekter Lagerung der Röntgenaufnahme scheint der Nagel auffällig weit im Uhrzeigersinn (nach medial) torsiert in der Tibia verankert. Die einwirkenden Kräfte wurden dadurch etwas ungleichmässig verteilt.

Weiterhin gibt es eine radiologische Auffälligkeit in Bezug auf die beiden distalen Schrauben bei allen Tieren der Fast 2 Gruppe: Rund um die Lage beider Schraubenhälse in der Cis-Kortex war ein aufgehellter (dunkler) „Hof“ zu erkennen. Diese Auffälligkeit mag tatsächlich ein Hinweis darauf sein, dass die axiale Bewegung die distalen Schrauben stärker belastet hat. Allerdings zeigten die Schrauben beim Herausdrehen keine Auffälligkeit. Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass die Bewertung des Drehverhaltens der Schrauben eine subjektive Beobachtung war, zudem von verschiedenen Personen vorgenommen wurde und nicht durch objektive Messungen des Drehmomentes validiert wurden.

#### **4.4 Biomechanische Testung**

Insgesamt wurden 36 Tibiae getestet, pro Schaf jeweils die operierte Seite sowie die gesunde kontralaterale Seite.

Letzteres ermöglichte die Ausschaltung individueller Unterschiede, indem gesunder und operierter Knochen in Relation zueinander gesetzt werden konnten.

Da die Torsionssteifigkeitsmessung bis zum Bruch des Knochens fortgesetzt wurde konnten in den nachfolgenden Untersuchungen (Histologie und  $\mu$ CT) Mikrofrakturen im Präparat gefunden werden. Diese konnten jedoch gegenüber intravitalen Prozessen klar abgegrenzt werden. Ein weiteres Resultat war, dass die operierten Knochen der Fast 2 Gruppe beim Torsionstest im Moment des Bruches, nach dem subjektiven Empfinden der Untersucher, ein leiseres Bruchgeräusch als die der anderen beiden Gruppen hatten.

##### **4.4.1 Maximales Drehmoment**

Das grösste maximale Drehmoment wurde von der Kontrollgruppe erreicht, gefolgt von der Fast 1 und der Fast 2 Gruppe. Die Unterschiede zwischen den Gruppen wiesen keine Signifikanz auf.

In allen drei Gruppen war das Drehmoment des Knochens der gesunden Seite höher als das der zugehörigen operierten Seite. Siehe hierzu Tabellen 4 und 5 im Anhang.

##### **4.4.2 Torsionssteifigkeit**

Die höchsten Werte für die Torsionssteifigkeit hatte die Kontrollgruppe, dicht gefolgt von der Fast 2 Gruppe. Die Unterschiede zu den Torsionssteifigkeitswerten der Fast 1 Gruppe sind zwar nicht signifikant, zeigen aber sowohl in der statistischen Analyse nach Scheffé als auch nach Bonferoni eine klare Tendenz ( $p$  0,07 bzw  $p$  0,06).

In der Fast 2 Gruppe wiesen die Knochen der gesunden Seite insgesamt leicht höhere Steifigkeitswerte als die operierte Seite, in einem Fall (17.17) war die



Steifigkeit der operierten Seite höher. In der Kontrollgruppe wiesen zwei operierte Knochen (17.10 und 17.11) höhere Steifigkeiten auf als die gesunde Seite, und bei der Fast 1 Gruppe waren die Steifigkeitswerte der operierten Seite alle niedriger als die der operierten Seite. Siehe hierzu Tabellen 4 und 5 im Anhang.

## **4.5 Ergebnisse der Radiologie**

### **4.5.1 Ergebnisse der $\mu$ CT-Untersuchung**

Die  $\mu$ CT Untersuchung aller 18 Proben konnte erfolgreich durchgeführt werden und die einzelnen morphometrischen Volumina konnten innerhalb der Masken bestimmt werden. In der Gesamtbetrachtung sind die Gruppen bezogen auf die erhobenen morphometrischen Parameter nicht signifikant verschieden.

Bei Betrachtung der Ergebnisse für die einzelnen „volumes of interest“ ist jedoch zu erkennen, dass die Kontrollgruppe und die Fast 2 Gruppe im Bereich der VOI1 Maske (welche die Schnittstelle zwischen den Knochenkonturen und dem Frakturspalt darstellt, siehe Material und Methoden) deutlich mehr Knochengewebe als die Fast 1 Gruppe zeigen. Der Frakturspalt zwischen den Frakturen ist demnach stärker mit Knochengewebe überbrückt. Die Spaltmaske erfasst die Knochen volumina der Kallusringmanschette. Auch hier schneiden Fast 2 und Kontrollgruppe besser ab als die Fast 1 Gruppe. Die detaillierten Ergebnisse sind in den Tabellen 6 und 7 zusammengefasst.

Allerdings gibt die Messung keinen weiteren Aufschluss über die Verteilung der Ringmanschette. Hier geben die  $\mu$ CT-Aufnahmen im Querschnitt nach visueller Auswertung Aufschluss. Bei Betrachtung der Aufnahmen fällt auf, dass die dynamischen Systeme (Fast 1 und Fast 2) generell mehr zu einer unsymmetrischen Kallusmanschette im Komplettschnitt neigen. Man sieht häufig das Bild von zwei nach links und rechts hinten gestreckten Kallus-„Hörnern“, wohingegen im vorderen Bereich eher wenig Kallus gebildet wird. Die genauen Befunde finden sich in Tab 8 zusammengefasst.

## **4.5.2 Ergebnis der Auswertung der Röntgenbilder**

### **4.5.2.1 Kallus-Dichte**

In Bezug auf die Kallusdichte gab es zwischen den Gruppen zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede. Es ist generell eine kontinuierliche Zunahme der Kallusdichte zu beobachten, mit drei Ausnahmen in der Fast 2 Gruppe und einer Ausnahme in der Fast 1 Gruppe.

In der 9. Woche wurde die explantierte Tibia zunächst mit dem Nagel im Schaft und nach Entnahme des Nagels noch einmal geröntgt. Die Bewertungen der Kallusdichte zwischen diesen Aufnahmen weisen in 8/12 Fällen geringe Unterschiede auf. In 5 der genannten 8 Fälle fiel die Bewertung der Dichte nach Entfernung des Nagels höher aus.

Bei der Dichte des hinteren Kallus zeigt die Fast 2 Gruppe in der 9. Woche in der Aufnahme ohne Marknagel zusammen mit der Kontrollgruppe die höchste Kallusdichte. Hingegen in der 9 Wochen Aufnahme mit Nagel wurde die Kallusdichte von Fast 1 und Kontrollgruppe höher gewichtet als die Dichte der Fast 2 Gruppe.

In der Bewertung der lateralen Dichte liegt die Kontrollgruppe in der 9. Woche in beiden Aufnahmen vor der Fast 1 und Fast 2 Gruppe. In der Aufnahme mit Nagel liegt die Fast 1 vor der Fast 2 Gruppe, und in der Aufnahme ohne Nagel liegen beide Gruppen gleichauf.

Bei der medialen Kallusdichte liegen in dem 9 Wochen Scoring mit Nagel, Kontrollgruppe und Fast 1 Gruppe gleichauf, und die Fast 2 Gruppe dahinter. In der 9-Wochen Aufnahme ohne Nagel liegt die Fast 1 Gruppe vorne, die Kontrollgruppe dahinter gefolgt von der Fast 2 Gruppe.

Bei der kranialen Kallusdichte liegen in beiden 9 Wochen Aufnahmen die Kontrollgruppe und die Fast 1 Gruppe vor der Fast 2 Gruppe. Die Fast 2 Gruppe weist hier den niedrigsten gescorten Wert (1,20) zum Zeitpunkt „9 Wochen“ auf, was mit der niedrigen Kallusaktivität im kranialen Bereich korreliert. Detaillierte Ergebnisse in Tabelle 9.2

#### 4.5.2.2 Kallus-Bildung in anterior-posteriorer (a-p) Projektion lateral und medial

Bei der Betrachtung der Kallusbildung wurde folgendes Scoring Prinzip verwendet:

Kein Kallus = 0, Kallus reicht nicht bis in den Defekt = 1

Kallus überbrückt den Defekt zu weniger als 50% = 2

Kallus überbrückt den Defekt mehr als 50% aber weniger als 100% = 3

Kallus überbrückt den Defekt komplett = 4

In der anterior-posterioren Projektion wurde sowohl die Kallusbildung lateral als auch medial bewertet. Bei der lateralen Betrachtung zeigte sich bei allen Gruppen, mit Ausnahme der Kontrollgruppe, eine Zunahme der Kallusbildung zwischen der 3. und der 9. Woche. Bei der Kontrollgruppe wurde die Kallusbildung etwas höher gewertet (4,00) als in der 9. Woche (3,75). Die Röntgenbilder der 9. Woche sind jedoch am explantierten Knochen und somit nach Entfernung des Weichteilgewebes angefertigt worden. In der 9. Woche weist die Kontrollgruppe die grösste Dichte auf, gefolgt von der Fast 2 Gruppe und der Fast 1 Gruppe an letzter Position. Detaillierte Ergebnisse in Tabelle 9.1. Der Unterschied in der 9. Woche ist nicht signifikant. In der 8. Woche hingegen beträgt der p Wert=0,005 in der Bonferoni Ableitung zwischen der Kallusbildung der Kontrollgruppe (4,00) und der Fast 1 Gruppe (3,17) und zeigt somit eine deutliche Tendenz auf.

Bei der Betrachtung der medialen Kallusbildung zeigte sich ebenfalls ein kontinuierlicher Anstieg der Kallusbildung bei allen drei Gruppen, ausgenommen zwischen der 8. und der 9. Gruppe in der Kontrollgruppe. In der 9. Woche hat die Fast 2 Gruppe vor der Kontrollgruppe und der Fast1 Gruppe die höchste Kallusbildung. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind in keiner Woche signifikant. Detaillierte Ergebnisse sind in Tabelle 9.1 dargestellt.

#### *4.5.2.3 Kallus-Bildung in medio-lateraler (m-l) Projektion kranial und kaudal*

Bei der lateralen Röntgenprojektion wurden entsprechend die kaudale und die kraniale Kallusbildung bewertet. Auch bei dem kaudalen Anteil steigt die Kallusbildung kontinuierlich an, bei der Fast 2 Gruppe sogar bis in die 9. Woche. Bei der Kontrollgruppe ist wieder ein leichter Abfall zwischen der 8. und der 9. Woche zu erkennen. In der 9. Woche hat die Fast 2 Gruppe die stärkste Kallusbildung, gefolgt von der Kontrollgruppe und der Fast 1 Gruppe. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind jedoch in keiner Woche signifikant.

Bei der Betrachtung des kranialen Kallus ist grundsätzlich wieder ein Anstieg bis in die 9. Woche zu beobachten, mit Ausnahme erneut der Kontrollgruppe, bei der zwischen der 8. Woche und der 9. Woche ein leichter Abfall dokumentiert ist.

Allerdings treten im Verlauf der Testung Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Während die Kontrollgruppe in allen Wochen, mit Ausnahme der 3. Woche, die stärkste Kallusbildung aufweist, schneidet die Fast 2 Gruppe ab der 6. Woche am schwächsten ab. In der 6. Woche beträgt der p Wert zwischen der Kontrollgruppe und der Fast 2 Gruppe  $p = 0,005$  in der Bonferoni Ableitung und weist somit eine klare Signifikanz auf. In der 7. Woche geht die Signifikanz leicht zurück, ist jedoch in der 8. Woche sowohl in der Scheffe ( $p = 0,002$ ) als auch in der Bonferoni ( $p = 0,001$ ) Ableitung klar signifikant. Der Unterschied zwischen Fast 1 und Fast 2 ist hingegen nicht signifikant.

In der 9. Woche sind die Gruppenunterschiede nicht mehr signifikant. In der 9. Wochen Aufnahme ohne Nagel wurde in der Fast 2 Gruppe der Kallus mit 2,30 gewertet, und somit deutlich höher als mit dem Nagel (1,92). Die 9-Wochen Gruppe ohne Nagel ist ansonsten in allen Ebenen in allen Gruppen gleich gut oder leicht besser wie die 9-Wochen Gruppe mit Nagel.

#### *4.5.2.4 Remodelierung der Defektränder*

Bei der Aktivität der Remodelierung der Defektränder zeigten sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede, jedoch recht deutliche Tendenzen.

Lag Remodelierungsaktivität vor, wurde eine 1 vergeben, lag keine Aktivität vor eine 0, und bei Resorptionsvorgängen eine -1.

Die Kontrollgruppe hat zu allen Zeitpunkten in allen vier Ebenen einen Wert von 0,0 weist also weder Remodelierung noch Resorption auf. Bei der Fast 1 Gruppe hingegen liegt die Remodelierungsaktivität zumeist (21/24 Fällen) zwischen 0,17 und 0,33. Ausnahmen sind nur die 3. Woche, in der kranialen und medialen Ebene, in denen keine Aktivität (0,0) bewertet wurde, sowie in der lateralen Aufnahme in der 8. Woche, in der ein Maximalwert von 0,5 für die Aktivität vergeben wurde.

Bei der Fast 2 Gruppe hingegen wurde in der überwiegenden Zahl der bewerteten Zeiträume (17/24) Resorptionsvorgänge bewertet ( $< 0$ ). Allerdings findet sich in allen vier Ebenen in der 3. Woche, sowie in der kaudalen Ebene zusätzlich noch in der 6. Woche, keine Aktivität. In den lateralen Projektionen in der 9. Woche mit und ohne Nagel findet sich sogar eine Remodelierungsaktivität (0,17).

Der höchste Wert der Resorptionsaktivität (-0,67) liegt in der kranialen Ebene in der 9. Woche vor. Hier liegt der Unterschied zwischen der Fast 1 und Fast 2 Gruppe in der Ableitung nach Bonferroni mit einem p-Wert von 0,005 über dem signifikanten Bereich.

#### *4.5.2.5 Fissuren und Ausdünnung der distalen Kortex*

Lediglich die Tibia eines Tieres der Kontrollgruppe (17.05) wies von der 3. bis zur 7. Woche eine Fissur am proximalen Tibia-Abschnitt auf. In der 6. Woche trat am gleichen Tier auch eine Fissur am distalen Tibia-Abschnitt auf. Bei keinem anderen Tier wurden intravitale Fissuren beobachtet.

Die Ausdünnung der distalen Kortextränder als mögliche Folge des Reamens wurde ebenfalls bewertet:

In der 3. Woche sind in diesem Aspekt in allen Gruppen Tiere betroffen. Es sind zwei Tiere der Kontrollgruppe, drei der Fast 1 Gruppe und zwei Tiere der Fast 2 Gruppe. In den Folgewochen (6-9. Woche) ist in der Kontrollgruppe ein Tier betroffen (17.05), in der Fast1 Gruppe ebenfalls 1 Tier (17.03) und in der Fast 2 Gruppe sind es drei Tiere (17.17, 17.18, 17.19).

### **4.5.3 Auswertung der Mikroradiographien**

Bei der visuellen Bewertung der Mikroradiographien wurde bei der Betrachtung der Ausrichtung der Fragmente festgestellt, dass es in allen drei Gruppen leichte Verschiebungen gab. Bei der Kontrollgruppe und der Fast 2 Gruppe waren dies 2/6 leichte Verschiebungen, bei der Fast 1 Gruppe nur eine (1/6). Gruppenunterschiede gibt es auch in der Homogenität des Kallusgewebes. Während der Kallus der Fast 2 Gruppe die grösste Homogenität und die höchste visuelle Kompaktheit aufweist, ist der Kallus der Fast 1 Gruppe insgesamt „unruhiger“, d.h. nicht durchgehend homogen und unregelmässiger kalzifiziert. Die Befunde der Kontrollgruppe liegen dazwischen.

Auch in der Form des Kallus waren visuell Unterschiede erkennbar: Während sich die Kallusformation bei der Kontrollgruppe und der Fast 1 Gruppe eher langgezogen und längsoval präsentierte, bildete die Fast 2 Gruppe im direkten Vergleich einen eher kugeligen und bulligen Kallus.

Die Aussenränder sind dabei auch unterschiedlich glatt und gleichmässig. Die Ränder der Fast 1 Gruppe sind hier am ungleichmässigsten und rauhesten. Nur bei 2/6 Tieren lassen sich relativ glatte Kallusränder finden.

Weiterhin wurde betrachtet, ob der Bereich zwischen den Fragmenten durchgebaut wurde. Die Kontrollgruppe und Fast 2 Gruppe sind hierbei fast komplett durchgebaut, lediglich bei 2/6 Fragmenten fallen offene Stellen auf.

Bei der Fast 1 Gruppe finden sich an 4/6 Fragmenten offene Stellen, sie ist also etwas weniger gut durchgebaut. Der Abstand der Fragmente zueinander ist ebenfalls angeschaut worden. Die Abstände der Fragmente zueinander sind hierbei bei Kontrollgruppe und Fast 1 Gruppe relativ weit, bei der Fast 2 Gruppe jedoch enger und homogener als bei den beiden Vergleichsgruppen. Weiterhin wurden die Schnitte auf das Vorhandensein von Fissuren untersucht. Auf den Radiographien der Kontrollgruppe liessen sich in 2/6 Fällen endostale Fissuren, sowie in 2/6 weiteren Fällen Brüche der distalen Fragmente feststellen. Während die Fast 1 Gruppe 3/6 Fälle mit endostalen Frakturen aufwies, waren in der Fast 2 Gruppe keine Fissuren oder Frakturen zu finden. Mit der parallel durchgeführten Betrachtung der mit den Mikroradiographien korrespondierenden histologischen Dickschnitte, sowie der intravital erhobenen radiologischen Befunde, konnten die aufgeführten Mikrofrakturen als postmortale Prozesse identifiziert werden. Ihre Ursache liegt in den zuvor durchgeführten biomechanischen Testungen.

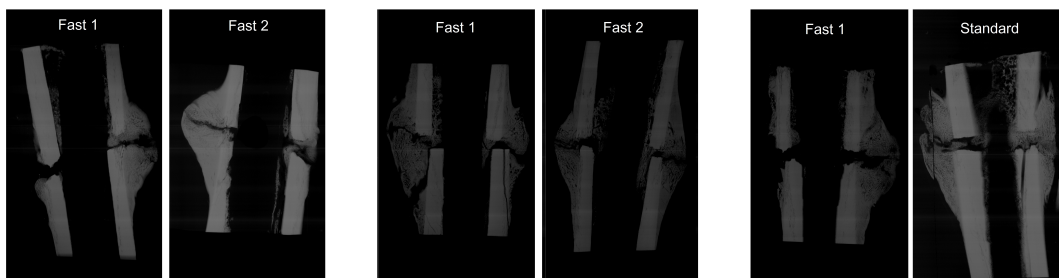


Abb.3. Vergleich der visuellen Kompaktheit: Fast2 kompakter als Fast1 (17.03 vs. 17.18)

Abb.4. Vergleich der Glätte der äusseren Kallusränder: Fast2 glatter als Fast1 (17.14 vs. 17.16)

Abb.5. Vergleich des Durchbaus der Kallus: Standard besser durchgebaut als Fast1 (17.08 vs. 17.07)

## **4.6 Histologische Untersuchung**

### **4.6.1 Ergebnis histomorphometrische Untersuchung Dickschnitte**

Bei allen drei Gruppen hat die Fläche des alten Knochens den grössten prozentualen Anteil an den vier gemessenen Gewebefraktionen (>42%). Bei der Kontrollgruppe und der Fast 2 Gruppe folgt als zweithäufigste Fraktion das neue Knochengewebe (>31,6), bei der Gruppe Fast 1 folgte zunächst das Bindegewebe (29,94%). An dritter Position rangierten demnach bei der Kontrollgruppe und der Fast 2 Gruppe (bei beiden Gruppen aufgerundet 24%) und bei der Fast 1 Gruppe der neue Knochen (27,1%). Bei allen drei Gruppen macht den geringsten Gewebeanteil (>0,16%) das Knorpelgewebe aus. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant.

### **4.6.2 Ergebnis der Untersuchung der Fluoreszenzschnitte**

#### *4.6.2.1 Qualitative Auswertung der Fluoreszenzen*

Pro Fluoreszenzschnitt wurden die drei Bilder der einzelnen Fluorochrome sowie das Gesamtbild der übereinandergelegten Einzelbilder betrachtet. In allen 18 Schnitten war für die drei applizierten Fluorochrome eine deutliche Aktivität erkennbar. Für die Morphologie der Schnitte gilt was bei der Beschreibung der makroskopischen Untersuchung der Mikroradiographien dargelegt wurde. Die Gleichmässigkeit der Farbverteilung auf beiden Rändern des Kallus variiert zwischen den Gruppen. Während bei Fast 2 (5/6) und bei der Kontrollgruppe (5/6) die fluorochromatische Aktivität auf beiden Seiten gleichmässig verteilt ist, findet sich bei der Fast 1 Gruppe weniger (2/6) ausgeglichene Aktivität auf beiden Seiten.

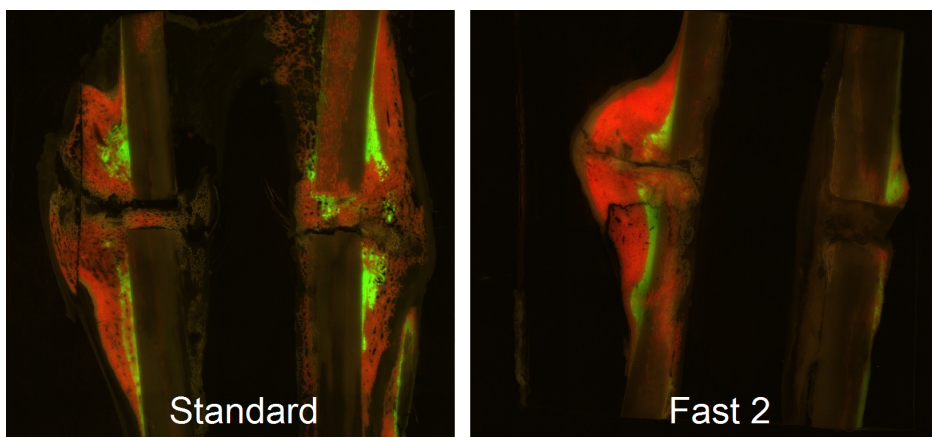
Die Calcein-Grün-Aktivität ist bei der Fast 2 Gruppe insgesamt deutlich weniger ausgeprägt als bei der Fast 1 und der Kontrollgruppe.

Die Xylenol-Orange Aktivität ist bei allen Gruppen hingegen insgesamt ähnlich. Beim Bild des Oxytetracyclin lässt sich wiederum eine klar gesteigerte Aktivität bei der Fast 2 Gruppe erkennen. Insbesondere zwischen den Fragmenten stellt



sich bei der Fast 2 Gruppe die höchste Aktivität des Oxytetracyklins dar. Bei den anderen Gruppen ist die Aktivität zwischen den Fragmenten sonst eher Xylenol-Orange dominiert. Eine Ausnahme von der Gruppentendenz der Fast 2 Gruppe stellt 17.20 da, wo zwischen den Fragmenten kaum Aktivität zu erkennen ist.

Bei Betrachtung des Gesamtbildes werden gruppenspezifische Unterschiede augenfällig. Bei der Betrachtung der Schichtung der Fluorochrome ist insgesamt die Fast 2 Gruppe am geordnetsten, und die Schichtung am klarsten zu erkennen. 4/6 Proben weisen eine geordnete Schichtung auf. Die Kontrollgruppe liegt dahinter (3/6). Bei der Fast 1 Gruppe ist die Schichtung (2/6) weniger ausgeprägt und insgesamt am unklarsten zu erkennen.



**Abb.6: Vergleich der Schichtung (Links 17.07, Rechts 17.18: Schichtaufbau bei der Fast 2 stärker ausgeprägt. Gleichzeitig fällt die kugeligere Kallusform der Fast 2 Gruppe im Vergleich zu der langgezogenen Kallusform der Kontrollgruppe auf.**

#### *4.6.2.2 Quantitative Auswertung der Fluoreszenzen:*

Bei der Betrachtung der prozentualen fluorochromatischen Aktivität im Verhältnis zum Gesamtbild zu den Injektionszeitpunkten 3 Wochen (Calcein Grün), 6 Wochen (Xylenol Orange) und zwei Tagen vor der Schlachtung in der 9. Woche (Oxytetracyklin) lassen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen.

In der Calcein-Grün Fraktion hat die Fast 2 Gruppe (2,46%) gegenüber der Fast 1 (3,19%) und der Kontrollgruppe (3,52%) die geringste Aktivität. Drei Wochen

später, nämlich in der Xylenol Orange Fraktion, hat sich die Reihenfolge umgekehrt: Die Fast 2 Gruppe hat hier die höchste Aktivität (9,76%), gefolgt von der Fast 1 Gruppe (8,32%) und der Kontrollgruppe (7,8%). Auch in der Oxytetracyclin Fraktion liegt die Fast 2 Gruppe (4,79%) anteilmässig vor der Kontrollgruppe (3,18%) und der Fast 1 Gruppe (2,45%).

## 5 Diskussion

### 5.1 Ziel der Studie

Ziel der Studie war es, einen Marknagel mit axial dynamisierenden Eigenschaften in seiner Wirkung auf die Knochenheilung zu untersuchen.

Zwar kann auf Grundlage der Studienergebnisse noch keine komplett abschliessende Beurteilung des Test-Systems gegeben werden, jedoch wurden vielversprechende Resultate erzielt, welche eine umfassende Beurteilung erlauben.

### 5.2 Tiermodell

Obwohl aus ethischen und gesellschaftlichen Gründen die Entwicklung von Alternativen zum Tierversuch stetig voranschreitet, sind in der aktuellen klinischen Forschung Tierversuche nach wie vor essentiell um Fortschritte in der Medizin zu erzielen [70]. Die Frakturheilung, auf welche in dieser Studie im Rahmen einer dynamisierenden Osteosynthese Einfluss genommen wurde, stellt einen hoch komplexen und multifaktoriellen Prozess dar [2]. Ein fundamentales Prinzip der menschlichen Medizinethik besteht im Prinzip des "Nicht-Schadens" [71]. Ein klinischer Einsatz des Fast-Nails ohne vorherige Testung im Tierversuch ist nach momentanen Stand der Forschung nicht vorstellbar, da jegliche Aussagen bezüglich Heilungsfortschritt und biomechanischer Verbesserung der Frakturheilung fehlen würden.

Im Vorfeld der Studie wurden mittels einer Kadaverstudie biomechanische Daten erhoben und der Fast-Nail so weit wie möglich ohne den Einsatz von

Tieren getestet. Erst auf Grundlage vielversprechender Daten wurde entschieden den Fast-Nail am Säugetier *in vivo* zu testen [21].

Jeder Tierversuch ist unter Berücksichtigung einer Vielzahl von ethischen, ökonomischen und wissenschaftlichen Faktoren bestrebt, die für die Aussagkraft des Versuches am besten geeignete Spezies zu verwenden. Heimtiere (wie Kaninchen und kleine Nagetiere) schieden für die vorliegende Studie aufgrund der schieren Grösse des Fast-Nails und einem gegenüber dem Mensch primitiveren Knochensystem von vorneherein aus [72].

Das Schaf ist hingegen in der muskuloskelettalen Forschung eine etablierte Spezies für Tierversuche [24, 73]. Dies liegt zum einen an den dem Menschen ähnlichen Proportionen und zum anderen an einem mit dem Menschen vergleichbaren Knochenstoffwechsel und -aufbau. Diese Vorteile würden sich ansonsten nur noch bei Primaten finden, bei welchen die Knochenphysiologie der des Menschen noch ähnlicher ist. Allerdings ist der Einsatz von Primaten in Tierversuchen wegen ihrer hochentwickelten kognitiven Fähigkeiten an erster Stelle ethisch bedenklich. Hinzu kommen ein erheblich grösserer finanzieller Aufwand und eine viel aufwendigere Betreuung [72].

Für diese Studie wird die Eignung des Schafes insbesondere dadurch untermauert, dass die Tibiaosteotomie bei dieser Spezies ein etabliertes Verfahren für Studien zur Knochenheilung und Biomechanik ist und somit eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse erzielt werden konnte. Dies liegt darin begründet, dass die Tibia des Schafes (anders als bei z.B. Caniden) in der Tragachse des Beines liegt, was sehr ähnlich beim Menschen der Fall ist. Der Tibiaknochen weist jedoch im Vergleich mit der menschlichen Tibia eine generell höhere Krümmung auf, welche je nach Schaf stärker oder schwächer ausgeprägt ist. Es war deshalb in der Planung der Studie wichtig, durch präoperative Röntgenaufnahmen der Versuchstiere zu gewährleisten, dass Tiere mit einer zu starken Krümmung der Tibia von dem Versuch ausgeschlossen wurden. Mit der Wahl des Schafes als Versuchstier konnte

somit der Forderung Rechnung getragen werden, auch in Bezug auf die Operationsmethode und das verwendete Instrumentarium, den Verhältnissen beim Menschen möglichst zu entsprechen [73].

Für den Versuch wurden nur adulte Tiere verwendet, da die Knochenheilung bei Individuen in der Wachstumsphase rapider vonstattengeht und somit im Vergleich zu älteren Tieren von vorneherein besseren Heilungsergebnissen ausgegangen werden muss. Auch unter ethischen Gesichtspunkten ist die Verwendung von adulten Tieren vorzuziehen. Diese konnten sich bis zur ihrem Einsatz in der Studie einer doppelt so hohen Lebenserwartung wie Mastschafe erfreuen.

Anders als beispielsweise Caniden, die eine traumatisierte Gliedmasse eher schonen, kommt es bei Schafen sehr früh zu einer Vollbelastung der Gliedmasse [74].

Für die vorliegende Studie ist diese Besonderheit jedoch kritisch zu betrachten, da sie die klinische Wirklichkeit bei einem humanen Patienten nicht vollständig wiedergibt [75].

Die postulierten Vorteile des Fast-Nails, welche durch biomechanische Kadaverstudien untermauert werden, liegen insbesondere darin, dass schon das Eigengewicht der menschlichen Gliedmasse ausreicht um die axiale Dynamisierung zu erreichen. Das wäre besonders bei menschlichen Patienten von Vorteil, die in der frühen postoperativen Phase die Gliedmasse kaum oder gar nicht belasten [21, 75]. Rigide fixierte Marknägel, wie sie bei der Kontrollgruppe zum Einsatz kamen, benötigen eine signifikant höhere Gewichtsaufnahme um einen dynamisierenden Effekt zu erzielen. Es ist jedoch davon auszugehen, dass die Schafe in unserem Versuch diese Gewichtsaufnahme gezeigt haben und somit die Kontrollgruppe eine stärkere Dynamisierung erfuhr als es der klinischen Realität entspricht.

### 5.3 Aufbau der Studie

Mit dem, bei dieser Studie verwendeten transversen Tibiasteotomie-Modell mit 3mm Spaltbreite, wurde auf ein etabliertes und bewährtes Modell zurückgegriffen [23, 24, 76, 77].

Wenn auch etwas unfreiwillig, so boten die drei Gruppen gute Vergleichsmöglichkeiten, inwiefern verschiedene Kräfte auf die Frakturheilung positiv oder negativ einwirken. Die (anfänglich unbemerkte) Fehlkonstruktion des Inserts führte in der Fast 1 Gruppe zu dessen Torsionsinstabilität. Ungeplante Scherkräfte waren die Folge.

Dabei ist kritisch zu betrachten, dass die fehlerhaft produzierten Implantate nicht vor ihrem Einsatz auf die Einhaltung der genauen Spezifikationen hin überprüft worden sind. Erst nach den unerwarteten Resultaten bei Betrachtung der Röntgenbilder und der Schlachtung der ersten 12 Tiere wurden einige der explantierten Fast-Nails gegenüber den explantierten Nägeln der Kontrollgruppe in Hinblick auf ihre Torsionseigenschaften getestet. Dabei waren die Ergebnisse der Torsions-Performance wie folgt:

Länge des Drehmoments/Gängigkeits-Plateau

(Mittelwert +/- Standardabweichung):

Kontrollgruppe:  $1.02^{\circ} \pm 0,38^{\circ}$

Fast-Nail 1:  $6.81^{\circ} \pm 1,74^{\circ}$

Diese Resultate zeigen deutlich, dass die Nägel der Fast 1 Gruppe denen der Kontrollgruppe in Bezug auf die Torsionstabilität deutlich unterlegen waren.

Dass ein Marknagel mit einer herabgesetzten torsionalen Stabilität eine schlechtere Knochenheilung induziert, korrespondiert mit dem in der Literaturübersicht bereits dargelegten Stand des Wissens.

Das angedachte Funktionsprinzip der kontrollierten axialen Bewegung wurde durch die Fast 1 Gruppe nicht ausgeübt. Es wurde daraufhin der Produktionsfehler behoben und die Fast 2 Gruppe etabliert.

Zusätzlich wurde noch eine weitere Hypothese ins Spiel gebracht. Hierzu muss noch einmal aufgegriffen werden was im Tiermodell-Kapitel schon einmal kurz angedeutet wurde. So hatte die Kadaverstudie im Vorfeld nämlich gezeigt, dass die benötigten Kräfte für eine axiale Stimulierung sehr gering sind. Für den Fast-Nail hatte gemäss den Ergebnissen der Kadaverstudie allein das Eigengewicht der menschlichen Gliedmasse ausgereicht, um diese Kräfte wirksam werden zu lassen. Da menschliche Patienten nach einer Fraktur ihre Gliedmassen in der Regel zunächst nur zögerlich und vor allem kontrolliert belasten, hätte sich aus diesem Umstand für ein klinisches Szenario ein Vorteil ergeben. Da beim Schaf jedoch bereits in der ersten Woche postoperativ eine volle Gewichtsaufnahme erfolgte, erscheint es möglich, dass es durch den Fast-Nail zu einer Überdynamisierung der Fraktur gekommen ist. Weiterhin gibt es Hinweise aus der Literatur, dass Mikromotion erst einige Tage post-OP einsetzen sollte [78].

Diesem Umstand wurde mit der Etablierung der schrägen Blockierungsschraube bei der Fast 2 Gruppe Rechnung getragen. Durch sie sollte das Insert über 8 Tage blockiert und die axiale Bewegung somit initial unterbunden werden. Ausserdem sollte so die experimentelle, biomechanische Situation etwas mehr an die klinische Realität angeglichen werden. Problematisch war es jedoch, dass durch die schräge Schraube der Marknagel eine zusätzliche Fixierung im Knochen erfuhr und eine höhere Steifigkeit der Konstruktion erzielt wurde. Da der Kontrollgruppe diese zusätzliche Fixierung fehlte ist die Fast 2 Gruppe hier biomechanisch „benachteiligt“ worden, indem anfänglich weniger Stimulus zur Frakturheilung gegeben war. Die Anpassung war weiterhin nicht optimal, da die axiale Bewegung für 8 Tage komplett unterbunden wurde, anstatt sie lediglich zu minimieren, was der klinischen Realität eher entsprochen hätte, aber von der Umsetzung her schwierig gewesen wäre. Eine Möglichkeit wäre hier theoretisch die Verwendung eines abbaubaren Polymers zur Blockierung des Inserts gewesen. Bei anderen

Versuchen, bei denen eine Belastung der Schafe verhindert werden sollte, wurde z.B. ein halbiertes Gummiball als Standfuss in den Castverband integriert [79]. Die Tiere sollten so davon abgehalten werden, die Gliedmasse voll zu belasten. Leider wurde dieses Ziel mit dieser Technik auch nicht immer erreicht. Einzelne Schafe standen voll auf dem Gummiball und entlasteten durch den Höhenunterschied die gesunde Gliedmasse. In dem Zusammenhang ist auch das Hängesystem als kritisch zu betrachten. Zwar verhindert es, dass die Tiere sich ablegen und dann beim Aufrichten die Gliedmasse voll belasten. Allerdings führt es auch dazu, dass die Tiere die Gliedmasse mit dem schweren Castverband kaum komplett entlasten können. Sie können sie dies nur, wenn sie aus dem Hängesystem entfernt sind und sich hinlegen können. Jedoch bestünde ohne ein Hängesystem ein äusserst hohes Risiko für die Schafe, beim Aufstehen mit der operierten Hintergliedmasse auf dem Stallboden auszurutschen und sich das Bein zu brechen. Begünstigt wird dies durch die brüchige Knochenstruktur der Schafe und das panikartige Verhalten der Tiere zur Flucht, wenn jemand den Stall betritt. 25% Refraktur-Rate bei Schafen im Experiment sind die Norm, sind jedoch vom Tierschutzaspekt her keinesfalls zu tolerieren. Die Hängesysteme tragen dazu bei, diese Refraktur-Rate auf 0% zu reduzieren (bei >600 operierten Schafen) und sind daher integraler Bestandteil bei Tierexperimenten, in denen die oben beschriebenen Gefahren drohen.

Die anfänglich vollständige Entlastung entspräche natürlich eher dem Verhalten eines menschlichen Patienten, kann aber aus Tierschutzgründen nicht ohne weiteres umgesetzt werden.

#### **5.4 Operation und postoperative Phase**

Die Operationsmethode in Bezug auf Anästhesie, Vorbereitung des Tieres, Lagerung und Wahl des Zuganges hat bei den Tieren in dieser Studie gut funktioniert. Dem ist hinzuzufügen, dass die genauen Abläufe zuvor an einem Kadavertier erprobt und im Rahmen einer Pilotoperation an zwei Tieren

verfeinert wurden. Bei den Pilottieren wurde der Fast-Nail lediglich durch eine proximale Schraube sowie zwei distalen Schrauben im Knochen verankert. Das Insert wies demzufolge auch nur eine einzelne Öffnung auf.

Bei einem der beiden Pilottiere konnte in der Röntgenaufnahme drei Wochen post-OP eine so massive Lockerung der proximalen Schraube festgestellt werden, dass sich proximales und distales Fragment der Tibia gegeneinander verschoben hatten und der Osteotomiespalt partiell kollabiert war. Bei dem zweiten Tier behielten die Schrauben zwar ihre Fixierung, aber bei der Vermessung des Osteotomiespalt zeigte sich eine Spaltgrösse, die über den angestrebten 3mm Spaltbreite lag. Die Erkenntnisse aus dieser Pilotstudie führten zu zwei Modifikationen der Operationsmethodik für die Hauptstudie, welche sich dann bei den 18 Folgeoperationen der letztendlichen Studie bewährten. Einerseits wurde die proximale Verankerung um eine zusätzliche Schraube ergänzt, was auch eine bauliche Veränderung des Inserts nach sich zog. Zum anderen wurde die Dicke des Sägeblattes von 3mm auf 2,5mm reduziert, da davon auszugehen war, dass trotz Einsatz des Platzhalters im Frakturspalt die endgültige Spaltbreite etwa 0,5mm über dem Durchmesser des Sägeblattes liegen würde.

Das Aufbohren der Markhöhle, wie es auch in unserer Studie zum Einsatz gekommen ist, stellt eine weit verbreitete, jedoch nicht völlig unumstrittene Ergänzung der Marknagelung dar (siehe hierzu die Literaturübersicht)[63]. In der vorliegenden Studie ist dieser Vorgang jedoch insofern als alternativlos zu betrachten, da ohne das Reamen der Nagel in der entsprechenden humanadaptierten Grösse in der Schafttibia keinen Platz gefunden hätte.

Die Komplikationen von Schaf 17.04 mit der verstärkten Lahmheit in der postoperativen Phase erklären sich vermutlich durch eine ungenügend tiefe Einbettung des Nagels in der Tibia. Durch diesen Umstand entzündete sich das Kniegelenk. Paradoxerweise hatte der Kallus von 17.04 eine vergleichsweise hohe Bruchfestigkeit bei der biomechanischen Testung. Dies mag darin



begründet sein, dass das Tier seine Gliedmasse schonte und somit die durch das fehlerhaft produzierte Insert applizierten Torsionskräfte weniger stark zum Tragen kamen.

### **5.5 Radiographien, Cast, Probengewinnung und Aufbereitung**

Die Durchführung der Röntgenaufnahmen intra-vitam in Kombination mit dem Cast-Wechsel gestaltete sich ohne grössere Probleme. Es war jedoch nicht immer einfach, die Tibia, inklusive Knie- und Sprunggelenk, in ausreichender Schärfe auf das Röntgenbild zu platzieren. Voraussetzung war ein ruhiges Handling der Tiere, sowie für sie eine möglichst bequeme Sitzposition zu finden. Ein Futterentzug am Morgen des Untersuchungstages war hilfreich, so dass es während des Sitzens weniger stark zu einer Aufgasung des Pansens kommen konnte. Das zur Verfügung stehende Zeitfenster für die Röntgenaufnahme war teilweise sehr gering, da bei zu langer Wartezeit das Schaf fast unweigerlich seine Gliedmasse bewegte. Es bewährte sich deshalb, das Sprunggelenk mit einem Viehzeichenstift anzuzeichnen und dies zur schnellen Orientierung zu nutzen. Problematisch war, dass das digitale Röntgengerät parallel ebenfalls für klinische Patienten des Zürcher Tierspitals genutzt wurde. Dies konnte eine Wartezeit bis zur Entwicklung der Bilder bedeuten, in welcher das Schaf nicht mit einem neuen Castverband versehen werden konnte, da erst die ausreichende Qualität der Aufnahme überprüft werden musste. Musste die Aufnahme wiederholt werden, konnten sich die Wartezeiten kumulieren. Bei grossen Tieren bewährte es sich daher, eine grössere Röntgenplatte (35.4 x 43.2cm IP Cassette 3A, Fuji Photo Film Co. Ltd, Japan )zu verwenden. Ihr Einsatz verhinderte in den meisten Fällen, dass in den erhaltenen Röntgenbildern ein Teil der Gelenke „abgeschnitten“ war.

Auch die Fluoreszenzinjektionen verliefen ohne Probleme. Da die vorbereiteten Fluoreszenzinjektionslösungen jedoch im Kühlschrank aufbewahrt wurden, galt es darauf zu achten, dass diese zum Zeitpunkt der Injektion genügend

erwärmt waren, weil die subkutane Applikation ansonsten sehr unangenehm für das Tier gewesen wäre.

Schlachtung und anschliessende Präparation der Tibia verliefen ohne Probleme. Allerdings bestand während der Schlachtung von mehreren Tieren parallel immer das Risiko, dass Gliedmassen vertauscht werden konnten. Prinzipiell war es sinnvoll, zusätzlich zu Haftetiketten eine Markierung auf dem Knochen anzubringen. Die Verwendung von Haftetiketten bewährte sich jedoch nicht in Gänze, da sie durch die Umwicklung des Knochens mit feuchter Gaze aufweichten und sich ablösten. In einem Fall wurde bei der Biomechanischen Testung festgestellt, dass einem Knochen im Verlauf des Handlings ein falsches Haftetikett zugeordnet worden war. Über die Knochenmarkierung konnte er jedoch einwandfrei identifiziert werden. Es wäre für eine eventuelle Folgestudie zu überlegen, anstelle der Haftetiketten kleine Schilder aus festem wasserbeständigen Material (z.B. laminierte Pappe) zu verwenden und diese mittels Kordel oder Gummiband am Knochen zu adaptieren.

Obgleich bei der histologischen Präparation standardisierte und langjährig bewährte Methoden verwendet wurden, kam es bei der histologischen Einbettung zu kleineren Problemen. Nachdem die Proben in Plastikbehälter eingelegt und in flüssiges MMA eingelegt worden waren, dauerte es zum einen erheblich länger bis zur Aushärtung des Materials und zum anderen bildeten sich bei einigen Präparaten innerhalb des MMA luftumschlossene Bereiche (Luftblasen). Nachdem Herstellungsfehler beim MMA ausgeschlossen wurden, konnte als Ursache für die langsame Aushärtung und die Blasenbildung in einer Kombination der folgenden Gründe gesehen werden: Zum einen waren die Testobjekte relativ gross und zum anderen - durch die Entfernung des Nagels - innen vollständig hohl. Ferner verformten sich einige der Plastikgefässe leicht, was sich auch wieder durch die Grösse der Präparate und die daraus resultierende Verwendung einer grossen Menge an MMA erklärte. Hier hätte eventuell eine Verbesserung erzielt werden können, wenn bereits

nach der biomechanischen Testung die Präparate auf ihre „Region of Interest“ (= die Osteotomiestelle plus Kallus) hin gekürzt und stabilere Plastikgefässe eingesetzt worden wären. Abhängig von der Grösse des Kallus wäre es unter Umständen möglich gewesen diesen aufrecht einzubetten, so dass sich der Hohlraum gleichmässiger mit MMA gefüllt hätte. Trotz der Schwierigkeiten konnten die ausgehärteten Blöcke plangemäss geschnitten werden. Dort, wo sich Luftblasen im MMA befunden hatten, wies der Schnitt dann zwar kleinere Löcher auf, welche aber glücklicherweise nicht die wichtigen Gewebefractionen betrafen.

Bei der Festlegung der Schnittebenen war es nicht möglich feste „Fixpunkte“ zu bestimmen. Bei Plattenosteosynthesen werden hierfür beispielweise Schraublöcher genutzt, aber diese waren bei den vorliegenden Präparaten viel zu weit von der „Region of interest“ (ROI) entfernt. Gleichzeitig war der Kallus teilweise sehr unterschiedlich geformt und ausgeprägt, und auch der Durchmesser der Tibia variierte. Zwar war die Applikation der Schnittebenen (ein Schnitt durch die Mitte, ein Schnitt jeweils 0,5cm zu beiden Seiten paramedian) standardisiert, aber durch den variablen Tibiadurchmesser gingen einige der lateralen Schnitte durch den Zentralkanal und andere durch die Kortex. Theoretisch wäre es möglich gewesen, den Tibiadurchmesser zu bestimmen und dann die drei Schnittebenen zu diesem ins Verhältnis zu setzen. Allerdings ist die Tibia weder anatomisch gerade, noch im Durchmesser gleich. Auch die Formation des Kallus ragte bisweilen weit über den Tibiadurchmesser hinaus. Da Schnittebenen naturgemäss gerade sind, konnte die beschriebene Problematik auch mit der standardisierten Technik nicht vollständig behoben werden. Jedoch konnte die hauptsächliche ROI, nämlich bei der Osteotomielinie in allen Fällen gut getroffen und später zuverlässig ausgewertet werden.

## **5.6 Biomechanische Testung**

Am Ende der Knochenheilung steht die Wiedererlangung der mechanischen Kompetenz des Knochengewebes. Die Ermittlung der Torsionssteifigkeit und des maximalen Torsionsmoments erlauben Rückschlüsse auf den Grad dieser mechanischen Kompetenz und somit auch auf Grad und Qualität der Knochenheilung. In Bezug auf die Torsionssteifigkeit sind Kontrollgruppe und Fast 2 Gruppe der Fast 1 Gruppe zwar nicht signifikant, aber dennoch deutlich überlegen. Fast 2 und Kontrollgruppe erreichen Steifigkeitswerte die der Steifigkeit von intaktem Knochen zu über 80% entsprechen.

Interessanterweise werden in Bezug auf das maximale Torsionsmoment bei der Fast 2 Gruppe die schwächsten Werte erzielt. Hinzu kommt das subjektive Gefühl eines weniger lauten Knackgeräusches beim Bruch des Knochens bei dieser Gruppe. Dies könnte man so interpretieren, dass der Fast 2 Kallus sich in einer früheren Heilungsphase befindet und dementsprechend weicher ist. Gegen diese These sprechen jedoch die Ergebnisse der quantitativen Histologie und die Steifigkeitswerte. Die qualitative Histologie weist zudem auf eine gute Homogenität des Fast 2 Kallus hin. Allerdings deutet die y-CT Untersuchung auf schwächer ausgeprägte Symmetrie hin, was eine Erklärung für die biomechanischen Resultate liefert.

## **5.7 Histologische Auswertung**

Aus der histomorphometrischen Untersuchung der Dickschnitte lassen sich Aussagen über die quantitative Verteilung der einzelnen Gewebefractionen und über die Qualität des gebildeten Kallus ableiten. Zwar konnten wir zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede detektieren, jedoch fällt auf, dass sich die Fast 2 und die Kontrollgruppe in den Gewebefractionen stärker ähneln als die Fast 1 Gruppe. Bei letzterer Gruppe wird deutlich, dass

ein höherer Prozentsatz des Kallus aus Bindegewebe besteht und dafür der Anteil an neu gebildetem Knochen geringer war.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den eingangs in der Literatur dargestellten Stadien der Knochenheilung, so belegt dies einen weiter fortgeschrittenen Heilungsprozess und einen höherwertigeren Kallus bei der Fast 2 und bei der Kontrollgruppe [28].

Eine grundsätzliche Schwierigkeit bei der Erstellung von repräsentativen Schnitten ergab sich aus der polymorphen Kallusform und -grösse. Dies versuchte man zu berücksichtigen, indem von jeder Probe drei Schnitte angefertigt wurde. Dadurch, dass man sich für eine latero-laterale Schnittführung entschied, fiel eine geringere Kallusbildung im weit kranialen oder weit kaudalen Spaltbereich in dieser Auswertung weniger ins Gewicht. Die Auswertung der  $\mu$ CT Analyse im Vergleich bestätigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf das Kallusvolumen. Lediglich in der makroskopischen Analyse der horizontalen  $\mu$ CT-Schnittbilder sowie in der Auswertung der konventionellen Radiographien fallen Unterschiede in der kranialen Kallusbildung auf.

## **5.8 Auswertung der Fluoreszenzschnitte**

Die Analyse der Fluoreszenzbilder erlaubte es, Aussagen über die zeitliche Abfolge der Frakturheilung zu treffen und diese für die drei Versuchsgruppen zu vergleichen. Es galt bei der Interpretation zu berücksichtigen, dass Fluoreszenzfarbstoffe nur das Knochengewebe welches innerhalb von 48 bis 72 Stunden nach der Injektion aktiv ist, darstellen. Diese Aktivität beinhaltet Aufbau- aber auch Abbau- oder Umbauprozesse am Knochen [81].

Die quantitative Analyse ergab zwar keine signifikanten Unterschiede, allerdings eine deutliche Tendenz. Es fällt auf, dass die Fast 2 Gruppe zum Zeitpunkt 3 Wochen (repräsentiert durch die Calcein Grün Auswertung) noch die geringste Aktivität zeigt, um dann in den zwei folgenden Zeitabschnitten (6

Wochen bzw. 9 Wochen) die anderen Gruppen zu überholen. Unter Berücksichtigung dass die initiale Heilungsphase besonders sensibel auf mechanische Beeinflussung reagiert, hätte man hier eine zu starke Dynamisierung durch die Fast 2 Gruppe postulieren können, wäre die Fast 2 Gruppe nicht über 8 Tage ent-dynamisiert gewesen. Dadurch dass die axiale Mikromotion in der initialen Heilungsphase in der Fast 2 Gruppe durch die Schraube blockiert war, kann man anhand der Ergebnisse eher auf einen inhibtiven Effekt dieser Blockierung schliessen.

Die Fluoreszenzbilder wurden auch qualitativ interpretiert. Auch hier zeigten sich Unterschiede zwischen den Gruppen hauptsächlich in Bezug auf die Schichtung der Fluorochrome. Unter Berücksichtigung, dass hier die zeitliche Abfolge der Knochenaktivität dargestellt wird, lässt sich dies so interpretieren, dass die Fast 2 Gruppe nach Entfernung des Inserts und in einer Phase in der wieder axiale Mikromotion ausgelöst wurde, eine gleichmäßigere Aktivität der Heilungsprozesse aufwies. Limitiert wird die qualitative Analyse durch die geringe Anzahl an Proben und stellt weiterhin ein deskriptives, wenn auch wichtiges Bewertungskriterium dar.

### **5.9 Abschliessende Diskussion**

Obwohl der Fast-Nail in dieser Studie zusammenfassend betrachtet nicht die ursprünglich gewünschte signifikante Verbesserung zeigen konnte, lieferte er vielversprechende Ergebnisse.

Bei der Betrachtung der erhaltenen Ergebnisse muss zunächst ein grundsätzlicher Punkt kritisch betrachtet werden: Bei der Fast 1 Gruppe war das bewegliche Insert mit falschen Spezifikationen produziert worden. Durch diese Fehlproduktion war die torsionale Stabilität erheblich herabgesetzt.

Dieser „Fast-Nail“ kann daher eigentlich nicht als solcher bezeichnet werden, da er das postulierte Funktionsprinzip nicht richtig umsetzen konnte.

Die schlechten biomechanischen Ergebnisse im Vergleich zur Kontrollgruppe und die Inhomogenität des Gewebes in der Histologie stellen keine neue Erkenntnis dar, sondern unsere Studie konnte in diesem Punkt den momentanen Stand des Wissens bestätigen [44, 45].

Was jedoch zunächst verwundert ist die Tatsache, dass die Fast 1 Gruppe in der biomechanischen Testung ein höheres maximales Drehmoment als die Fast 2 Gruppe erzielte. Die Fast 2 Gruppe wies nämlich nicht nur in der histologischen Untersuchung einen höheren Anteil an neuem Knochen auf, sondern besass zudem von allen Gruppen den strukturiertesten Kallus und hatte auch in der Biomechanik eine deutlich höhere Torsionssteifigkeit als die Fast 1 Gruppe. Die Ergebnisse der Fluoreszenzanalyse und die Höfe im Bereich der distalen Schrauben belegen, dass durch den Fast Nail 2 ein dynamisierender Effekt ausgeübt wurde. Die Histologie gibt deutliche Hinweise darauf, dass dieser Kallus kompakter und hochwertiger gebildet wurde. Ein ähnlicher Effekt liess sich auch bei einer vergleichenden Studie von LCP Schrauben beobachten [14]. In deren Fall war der kompaktere Kallus vor allem in den für die Heilung relevanten Bereichen interkortikal und ciskortikal gebildet worden und auch biomechanisch stabiler. Eine mögliche Erklärung, warum der hochwertige Kallus der Fast 2 Gruppe nicht auch in der Biomechanik komplett überzeugte, kann in der mangelnden Kallusbildung im kranialen Bereich zu finden sein. In diesem Bereich schnitt die Fast 2 Gruppe signifikant schlechter ab als die Kontrollgruppe und deutlich schlechter als die Fast 1 Gruppe. Der Kallus im kranialen Bereich wurde durch die laterale Schnittführung in der Histologie nicht erfasst.

Dies wirft die wichtige Frage auf, ob das Prinzip des Fast-Nails nicht in der Lage ist in einer gekrümmten Schafttibia eine ausgeglichene Dynamisierung zu erreichen? Tatsächlich könnte die mangelnde Kallusbildung im kranialen Bereich der Frakturstelle das Resultat einer anderen Gewichtsverteilung in der Schafttibia im Gegensatz zur menschlichen Tibia sein [82], welche sich

besonders bei dynamisierenden Prozessen bemerkbar macht. Dies wird jedoch durch die Tatsache infrage gestellt dass die axial dynamisierende und zudem torsional instabile Fast 1 Gruppe im kranialen Bereich keine auffällige Kallusdefizienz aufweist. Allerdings ist es durch die Scherkräfte möglich, dass auch der kraniale Kallusbereich zusätzlich stimuliert wurde [46]. Es gilt auch in Betracht zu ziehen, dass eine andere Studie mit einem eigens konstruierten Marknagel, welcher axiale Mikromotion auslösen sollte und an Ziegen getestet wurde, über keine derartigen Probleme berichtet, sondern im Gegenteil eine verbesserter Kallusbildung aufzeigte [83]. Leider erläutern die aufgeführten Konstruktionspläne in dieser Studie nur das Funktionsprinzip, ohne genauer auf die Symmetrie des Nagelkorpus' einzugehen.

Eventuell sollte der Fast -Nail eine speziegerechte Anpassung erfahren. Es darf nicht ausser Acht gelassen werden, dass die Kadaverstudie an menschlichen Tibiae durchgeführt wurde und auch der Synthes® Expert Tibia Nail ein hochspezialisiertes human-adaptiertes Implantat darstellt.

Eine weitere Rolle könnte die zusätzliche Schraube spielen. Letztendlich wurde die Fast 2 Gruppe für 8 Tage mit einer zusätzlichen Schraube nicht nur mechanisch ausser Kraft gesetzt, sondern sie war zu diesem Zeitraum noch rigider fixiert als die anderen beiden Gruppen.

Anhand der Fluoreszenzverteilung zu den unterschiedlichen Zeiträumen lässt sich deutlich aufzeigen dass die Fast 2 Gruppe zunächst hinter den beiden anderen Gruppe lag, um diese dann in der Folge im Aktivitätslevel zu überholen. Dies spricht für eine Benachteiligung der Fast 2 Gruppe durch die Blockierungsschraube. Im Übrigen liefert dies auch eine Erklärung für die geringere kraniale Kallusbildung der Fast 2 gegenüber der ebenfalls dynamischen Fast 1 Gruppe .

Einen anderen Erklärungsansatz zeigt eine Studie von Claes auf [84]. Hier lieferte ein Rattenexperiment das Ergebnis, dass die (zu) frühe Dynamisierung von Frakturen keine Verbesserung der Heilung induzierte. In dieser Studie



zeigte die rigider fixierte Kontrollgruppe eine bessere Knochenheilung als die dynamisierte Gruppe. Claes zeigt in seiner Diskussion auf, dass eine moderat rigide Fixierung ebenfalls ein gewisses Mass an IFB ermöglicht und weist klar auf die Nachteile einer zu rigiden als auch einer zu losen Fixierung auf.

Möglicherweise wurden durch den Versuchsaufbau in unserer Studie „perfekte“ Bedingungen für die Kontrollgruppe geschaffen, indem die Tiere sofort post-OP die Gliedmasse belasteten. Das rigide System wurde somit im Rahmen der Möglichkeiten konstant und sofort nach der Operation dynamisiert. Ob dies der klinischen Wirklichkeit entspricht, - nämlich, dass ein menschlicher Patient die operierte Gliedmasse sofort voll belasten würde - ist jedoch fraglich [85].

Interessant wäre in diesem Zusammenhang auch die Frage, welche Resultate der Vergleich zwischen einem Fast 2 und einem dynamisierten (Proximale Fixation im Dynamic Slot) Nagel der Kontrollgruppe bringen würde. Hierzu sei jedoch nochmals auf die Pilotstudie verwiesen, bei der wir den Nagel zunächst mit nur einer proximalen Schraube fixiert hatten. Tatsächlich schien diese Fixierung jedoch nicht auszureichen und wir konnten frühzeitig einen Bruch der proximalen Verriegelungsschraube und eine Kollabierung des Frakturspaltes beobachten. Wir ergänzen daher in der Folge die proximale Fixierung um eine weitere Verriegelungsschraube. Allerdings unterstreicht dieser Vorfall eindrucksvoll, wie stark die frühe Vollbelastung der Gliedmasse der Schafpatienten trotz Hängesystem und Cast-Verband gewesen ist.

Es gäbe einige erfolgsversprechende Optionen, die Frage nach der Effektivität des Fast-Nails abschliessend zu beurteilen. Im Vorfeld wäre es sicher zunächst sinnvoll, die Speziesadaption in einer geeigneten Kadaverstudie zu überprüfen. Man könnte dann (entsprechende Ergebnisse vorausgesetzt) noch eine 4. Versuchsgruppe mit einem unblockierten Fast-Nail etablieren und deren Ergebnisse bei ansonsten unverändertem Versuchsaufbau mit der Kontrollgruppe vergleichen. Eine andere Option wäre die Etablierung sowohl

einer neuen Fast-Nail Gruppe als auch einer neuen Kontrollgruppe. Für beide ändert sich dann der Versuchsaufbau. Ziel der Änderung wäre es, durch ein geeignet erscheinendes Verfahren die Vollbelastung der Gliedmasse für beide Gruppen zu limitieren, **ohne** -wie mit der Blockierungsschraube geschehen- Einfluss auf die Biomechanik nur **einer** Gruppe zu nehmen.

### **5.10 Schlussfolgerung und Perspektive**

Dass die Fast 2 Gruppe trotz der Benachteiligung durch die Blockierungsschraube einen hochwertigen und torsionsstabilen Kallus produziert, stellt eine Perspektive für weitere Forschungen an diesem Funktionsprinzip dar. Auch die verbesserte Knochenheilung in anderen Studien die mit dem gleichen Funktionsprinzip, nämlich einer moderaten axialen Dynamisierung gearbeitet haben, untermauert dies [1, 4, 7, 10, 83]. Um diese Ergebnisse zu validieren sind weitere Studien mit einem nicht-blockierten Fast-Nail oder Modifikationen der Gliedmassenbelastung im Tiermodell nötig.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Bhandari, M., et al., *Treatment of open fractures of the shaft of the tibia.* J Bone Joint Surg Br, 2001. 83(1): p. 62-8.
2. Claes, L.E., et al., *Effects of mechanical factors on the fracture healing process.* Clin Orthop Relat Res, 1998(355 Suppl): p. S132-47.
3. Epari, D.R., et al., *Timely fracture-healing requires optimization of axial fixation stability.* J Bone Joint Surg Am, 2007. 89(7): p. 1575-85.
4. Kenwright, J., et al., *Axial movement and tibial fractures. A controlled randomised trial of treatment.* J Bone Joint Surg Br, 1991. 73(4): p. 654-9.
5. Klein, P., et al., *Comparison of unreamed nailing and external fixation of tibial diastases--mechanical conditions during healing and biological outcome.* J Orthop Res, 2004. 22(5): p. 1072-8.
6. Ulstrup, A.K., *Biomechanical concepts of fracture healing in weight-bearing long bones.* Acta Orthop Belg, 2008. 74(3): p. 291-302.
7. Yao, J.F., et al., *Rap system of stress stimulation can promote bone union after lower tibial bone fracture: a clinical research.* Int J Med Sci, 2012. 9(6): p. 462-6.
8. Schofer, M.D., et al., *Improved healing response in delayed unions of the tibia with low-intensity pulsed ultrasound: results of a randomized sham-controlled trial.* BMC Musculoskelet Disord, 2010. 11: p. 229.
9. Lenarz, C., G. Bledsoe, and J.T. Watson, *Circular external fixation frames with divergent half pins: a pilot biomechanical study.* Clin Orthop Relat Res, 2008. 466(12): p. 2933-9.
10. Zachee, B., P. Roosen, and A.G. Mc Aechern, *The dynamic axial fixator in fractures of the tibia and femur. A retrospective study in 98 patients.* Acta Orthop Belg, 1991. 57(3): p. 266-71.
11. Augat, P., et al., *Mechanical stimulation by external application of cyclic tensile strains does not effectively enhance bone healing.* J Orthop Trauma, 2001. 15(1): p. 54-60.
12. Iqbal, H.J. and P. Pidikiti, *Treatment of distal tibia metaphyseal fractures; plating versus intramedullary nailing: a systematic review of recent evidence.* Foot Ankle Surg, 2013. 19(3): p. 143-7.
13. Miclau, T. and R.E. Martin, *The evolution of modern plate osteosynthesis.* Injury, 1997. 28 Suppl 1: p. A3-6.
14. Richter, H., *Dynamisierung der Cis-Kortex durch Einsatz von „Dynamic Locking Screws“ in einer mit „Locking compression plates“ fixierten Tibiaquerosteotomie.* 2012.
15. Schophol, C., *Vergleichende Untersuchung der Frakturheilung mit minimal invasiver Fixateur intern Osteosynthese und gedeckter, unaufgebohrter Marknagelung.* 2009.

16. Stoffel, K., et al., *Biomechanical testing of the LCP--how can stability in locked internal fixators be controlled?* Injury, 2003. 34 Suppl 2: p. B11-9.
17. Penzkofer, R., et al., *Influence of intramedullary nail diameter and locking mode on the stability of tibial shaft fracture fixation.* Arch Orthop Trauma Surg, 2009. 129(4): p. 525-31.
18. Hooper, G.J., R.G. Keddell, and I.D. Penny, *Conservative management or closed nailing for tibial shaft fractures. A randomised prospective trial.* J Bone Joint Surg Br, 1991. 73(1): p. 83-5.
19. Hernandez-Vaquero, D., et al., *Dynamisation and early weight-bearing in tibial reamed intramedullary nailing: its safety and effect on fracture union.* Injury, 2012. 43 Suppl 2: p. S63-7.
20. Wolf, S., *Effects of ground based vibration on fracture healing.* 1999.
21. Dailey, H.L., et al., *A novel intramedullary nail for micromotion stimulation of tibial fractures.* Clin Biomech (Bristol, Avon), 2012. 27(2): p. 182-8.
22. Dailey, H.L., et al., *The Flexible Axial Stimulation (FAST) intramedullary nail provides interfragmentary micromotion and enhanced torsional stability.* Clin Biomech (Bristol, Avon), 2013. 28(5): p. 579-85.
23. Klein, P., et al., *The initial phase of fracture healing is specifically sensitive to mechanical conditions.* Journal of Orthopaedic Research, 2003. 21(4): p. 662-669.
24. Duda, G.N., et al., *Analysis of inter-fragmentary movement as a function of musculoskeletal loading conditions in sheep.* Journal of Biomechanics, 1998. 31(3): p. 201-210.
25. Perren, S.M., *Evolution of the internal fixation of long bone fractures. The scientific basis of biological internal fixation: choosing a new balance between stability and biology.* J Bone Joint Surg Br, 2002. 84(8): p. 1093-110.
26. McKibbin, B., *The biology of fracture healing in long bones.* J Bone Joint Surg Br, 1978. 60-B(2): p. 150-62.
27. Marsell, R. and T.A. Einhorn, *The biology of fracture healing.* Injury, 2011. 42(6): p. 551-5.
28. Doblare, M., J.M. Garcia, and M.J. Gomez, *Modelling bone tissue fracture and healing: a review.* Engineering Fracture Mechanics, 2004. 71(13-14): p. 1809-1840.
29. Gaston, M.S. and A.H. Simpson, *Inhibition of fracture healing.* J Bone Joint Surg Br, 2007. 89(12): p. 1553-60.
30. Cunningham, J.L., *The biomechanics of fracture fixation.* 2001.
31. Copuroglu, C., G.M. Calori, and P.V. Giannoudis, *Fracture non-union: who is at risk?* Injury, 2013. 44(11): p. 1379-82.

32. Einhorn, T.A., *The science of fracture healing*. J Orthop Trauma, 2005. 19(10 Suppl): p. S4-6.
33. Schindeler, A., et al., *Bone remodeling during fracture repair: The cellular picture*. Semin Cell Dev Biol, 2008. 19(5): p. 459-66.
34. Goodship, A.E. and J. Kenwright, *The Influence of Induced Micromovement Upon the Healing of Experimental Tibial Fractures*. Journal of Bone and Joint Surgery-British Volume, 1985. 67(4): p. 650-655.
35. Lacroix, D. and P.J. Prendergast, *A mechano-regulation model for tissue differentiation during fracture healing: analysis of gap size and loading*. J Biomech, 2002. 35(9): p. 1163-71.
36. Augat, P., et al., *Mechanics and mechano-biology of fracture healing in normal and osteoporotic bone*. Osteoporos Int, 2005. 16 Suppl 2: p. S36-43.
37. Claes, L., K. Eckert-Hubner, and P. Augat, *The effect of mechanical stability on local vascularization and tissue differentiation in callus healing*. J Orthop Res, 2002. 20(5): p. 1099-105.
38. Epari, D.R., et al., *Mechanical conditions in the initial phase of bone healing*. Clin Biomech (Bristol, Avon), 2006. 21(6): p. 646-55.
39. Le, A.X., et al., *Molecular aspects of healing in stabilized and non-stabilized fractures*. J Orthop Res, 2001. 19(1): p. 78-84.
40. Wehner, T., et al., *Influence of the fixation stability on the healing time- a numerical study of a patient-specific fracture healing process*. Clin Biomech (Bristol, Avon), 2010. 25(6): p. 606-12.
41. Boccaccio, A.P., C., *Mechanobiology of Fracture Healing: Basic Principles and Applications in Orthodontics and Orthopaedics, Theoretical Biomechanics*. 2011.
42. Claes, L., S. Recknagel, and A. Ignatius, *Fracture healing under healthy and inflammatory conditions*. Nat Rev Rheumatol, 2012. 8(3): p. 133-43.
43. Lechner, J.J.A., *Der Einfluss einer kontrollierten zeitlich limitierten interfragmentären Bewegung auf die Frakturheilung*
44. Augat, P., et al., *Shear movement at the fracture site delays healing in a diaphyseal fracture model*. Journal of Orthopaedic Research, 2003. 21(6): p. 1011-1017.
45. Schell, H., et al., *The course of bone healing is influenced by the initial shear fixation stability*. Journal of Orthopaedic Research, 2005. 23(5): p. 1022-1028.
46. Bishop, N.E., et al., *Shear does not necessarily inhibit bone healing*. Clinical Orthopaedics and Related Research, 2006(443): p. 307-314.
47. Park, S.H., et al., *The influence of active shear or compressive motion on fracture-healing*. J Bone Joint Surg Am, 1998. 80(6): p. 868-78.
48. Augat, P., et al., *Local tissue properties in bone healing: influence of size and stability of the osteotomy gap*. J Orthop Res, 1998. 16(4): p. 475-81.

49. Augat, P., et al., *Interfragmentary movement in diaphyseal tibia fractures fixed with locked intramedullary nails*. J Orthop Trauma, 2008. 22(1): p. 30-6.
50. Claes, L., K. Eckert-Hubner, and P. Augat, *The fracture gap size influences the local vascularization and tissue differentiation in callus healing*. Langenbecks Arch Surg, 2003. 388(5): p. 316-22.
51. Bong, M.R., K.J. Koval, and K.A. Egol, *The history of intramedullary nailing*. Bull NYU Hosp Jt Dis, 2006. 64(3-4): p. 94-7.
52. Rüedi, T., *AO Principles of Fracture Management* 2007.
53. Duan, X., et al., *Intramedullary nailing for tibial shaft fractures in adults*. Cochrane Database Syst Rev, 2012. 1: p. CD008241.
54. Lowenberg, D.W., et al., *Long-term results and costs of muscle flap coverage with Ilizarov bone transport in lower limb salvage*. J Orthop Trauma, 2013. 27(10): p. 576-81.
55. Vallier, H.A., B.A. Cureton, and B.M. Patterson, *Randomized, prospective comparison of plate versus intramedullary nail fixation for distal tibia shaft fractures*. J Orthop Trauma, 2011. 25(12): p. 736-41.
56. Broos, P.L. and A. Sermon, *From unstable internal fixation to biological osteosynthesis. A historical overview of operative fracture treatment*. Acta Chir Belg, 2004. 104(4): p. 396-400.
57. Vecsei, V., S. Hajdu, and L.L. Negrin, *Intramedullary nailing in fracture treatment: history, science and Kuntscher's revolutionary influence in Vienna, Austria*. Injury, 2011. 42 Suppl 4: p. S1-5.
58. Weninger, P., et al., *Factors influencing interlocking screw failure in unreamed small diameter nails--a biomechanical study using a distal tibia fracture model*. Clin Biomech (Bristol, Avon), 2009. 24(4): p. 379-84.
59. Pape, H.C. and P. Giannoudis, *The biological and physiological effects of intramedullary reaming*. J Bone Joint Surg Br, 2007. 89(11): p. 1421-6.
60. Pfeifer, R., R. Sellei, and H.C. Pape, *The biology of intramedullary reaming*. Injury, 2010. 41 Suppl 2: p. S4-8.
61. Schemitsch, E.H., et al., *Quantitative assessment of bone injury and repair after reamed and unreamed locked intramedullary nailing*. J Trauma, 1998. 45(2): p. 250-5.
62. Gaebler, C., et al., *Reamed versus minimally reamed nailing: a prospectively randomised study of 100 patients with closed fractures of the tibia*. Injury, 2011. 42 Suppl 4: p. S17-21.
63. Pfister, U., *Marknagelung nach Aufbohrung*. Der Orthopäde 2010-02-01. Volume 39(Issue 2): p. pp 171-181.
64. Rommens, P.M., P. Paireon, and S. Kuhn, *[Nailing of metaphyseal fractures]*. Unfallchirurg, 2013. 116(9): p. 831-46.
65. Fairbank, A.C., et al., *Stability of reamed and unreamed intramedullary tibial nails: a biomechanical study*. Injury, 1995. 26(7): p. 483-5.

66.   Kreb, D.L., et al., *Intramedullary nailing without interlocking screws for femoral and tibial shaft fractures*. Arch Orthop Trauma Surg, 2013. 133(8): p. 1109-13.
67.   Whatling, G.M. and L.D. Nokes, *Literature review of current techniques for the insertion of distal screws into intramedullary locking nails*. Injury, 2006. 37(2): p. 109-19.
68.   Johnson, K.D., D.W. Johnston, and B. Parker, *Comminuted femoral-shaft fractures: treatment by roller traction, cerclage wires and an intramedullary nail, or an interlocking intramedullary nail*. J Bone Joint Surg Am, 1984. 66(8): p. 1222-35.
69.   Wehner, T., et al., *Improvement of the shear fixation stability of intramedullary nailing*. Clin Biomech (Bristol, Avon), 2011. 26(2): p. 147-51.
70.   Ferdowsian, H.R. and N. Beck, *Ethical and scientific considerations regarding animal testing and research*. PLoS One, 2011. 6(9): p. e24059.
71.   Page, K., *The four principles: can they be measured and do they predict ethical decision making?* BMC Med Ethics, 2012. 13: p. 10.
72.   Pearce, A.I., et al., *Animal models for implant biomaterial research in bone: a review*. Eur Cell Mater, 2007. 13: p. 1-10.
73.   Martini, L., et al., *Sheep model in orthopedic research: a literature review*. Comp Med, 2001. 51(4): p. 292-9.
74.   Höffer, A., *Evaluierung von Fentanyl transdermal und Morphin intraartikulär als Analgesieregime für Schafe in der orthopädischen Forschung*. 2013.
75.   Brumback, R.J., et al., *Immediate weight-bearing after treatment of a comminuted fracture of the femoral shaft with a statically locked intramedullary nail*. J Bone Joint Surg Am, 1999. 81(11): p. 1538-44.
76.   Claes, L., et al., *Temporary distraction and compression of a diaphyseal osteotomy accelerates bone healing*. J Orthop Res, 2008. 26(6): p. 772-7.
77.   Dumont, C., et al., *Long-term effects of saw osteotomy versus random fracturing on bone healing and remodeling in a sheep tibia model*. J Orthop Res, 2009. 27(5): p. 680-6.
78.   Gardner, M.J., et al., *In vivo cyclic axial compression affects bone healing in the mouse tibia*. J Orthop Res, 2006. 24(8): p. 1679-86.
79.   Wieser, K., et al., *Tendon response to pharmaco-mechanical stimulation of the chronically retracted rotator cuff in sheep*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2014.
80.   Floerkemeier, T., et al., *Comparison of various types of stiffness as predictors of the load-bearing capacity of callus tissue*. J Bone Joint Surg Br, 2005. 87(12): p. 1694-9.
81.   van Gaalen, S.M., et al., *Use of fluorochrome labels in in vivo bone tissue engineering research*. Tissue Eng Part B Rev, 2010. 16(2): p. 209-17.

82. Pape, D. and H. Madry, *The preclinical sheep model of high tibial osteotomy relating basic science to the clinics: standards, techniques and pitfalls*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2013. 21(1): p. 228-36.
83. Xu, W.Z., et al., *Effect of autocontrol micromotion intramedullary interlocking nail on fracture healing: an experimental study*. Chin J Traumatol, 2006. 9(3): p. 152-60.
84. Claes, L., et al., *Early dynamization by reduced fixation stiffness does not improve fracture healing in a rat femoral osteotomy model*. J Orthop Res, 2009. 27(1): p. 22-7.
85. Kubiak, E.N., et al., *Early weight bearing after lower extremity fractures in adults*. J Am Acad Orthop Surg, 2013. 21(12): p. 727-38.



## 7 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
b.i.d.	bis in dies (zweimal täglich)
BV	bone volume = Knochenvolumen
ca.	circa
CIT	Cork Institute of Technology
d.h.	das heisst
ETHZ	Eidgenössische technische Hochschule Zürich
ECVR	European College of Veterinary Radiology
FAST	flexible axial stimulation
Hz	Hertz
h	hour = Englisch Stunde
IFB	Interfragmentäre Bewegung
i.m.	intramuskulös
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
MMA	Methylmetacrylat
mCT	Mikro-Computer-Tomographie
ml	Milliliter
mm	Millimeter
ms	Millisekunden
M.	Musculus
NaCl	Natriumchlorid
N	Newton
Nm	Newtonmeter
Nr.	Nummer
OP	Operation
kVp	Peak Kilovoltage
PMMA	Polymethylmethacrylat
s.i.d.	sine in dies (einmal täglich)
s.c.	subkutan
s.c.	subkutan
TIF	Tagged Image File Format
TV	Totales Volumen
u.a.	und andere
VOI	volumes of interest
inch	Zoll (Masseinheit)

z.B.	zum Beispiel
$\mu\text{A}$	$\mu$ -Ampere

## 8 Anhang

### 8.1 Tabellen

Tab.3: Versuchsnummern und Gruppenzugehörigkeit mit Mittelwert und Standardabweichung (SA) der Gewichte der Versuchstiere

Versuchs-Nr.	Gruppe	Gewicht (kg)
17.03.	Fast1	57,4
17.04.	Fast1	78,3
17.05.	Standard	82,1
17.06.	Standard	73,8
17.07.	Standard	90,0
17.08.	Fast1	71,8
17.09.	Fast1	74,1
17.10.	Standard	71,4
17.11.	Standard	84,4
17.12.	Standard	74,0
17.13.	Fast1	80,0
17.14.	Fast1	70,5
17.15.	Fast2	76,0
17.16.	Fast2	65,5
17.17.	Fast2	68,0
17.18.	Fast2	71,0
17.19.	Fast2	63,0
17.20.	Fast2	63,0
Mittelwert/SA		73,02 ±8.15

Tab.4: Ergebnisse der biomechanischen Testung im Gesamtergebnis pro Gruppe

Gruppe	Maximales Drehmoment Nm	Steifigkeit Nm/°
Standard	53,07±12,04	88,67±15,50
Fast1	45,46±8,12	55.67±10,05
Fast2	36,93±13,28	86,50±18,88

Tab.5: Ergebnisse der biomechanischen Testung pro Tier; „defect“ bezeichnet die operierte linke Tibia, „control“ bezeichnet die gesunde Tibia

Schaf	Gruppe	Knochen	Max.Drehmoment(T) [Nm]	T_Ratio	Steifigkeit (S) [Nm/°]	S-Ratio
17.03.	FAST1	defect control	20.28 47.97	42.30	1.41 3.52	40
17.04.	FAST1	defect control	44.18 72.97	60.54	3.30 5.69	58
17.05.	Standard	defect control	41.38 81.35	50.86	4.14 5.26	79
17.06.	Standard	defect control	42.49 56.02	75.85	3.61 4.56	79
17.07.	Standard	defect control	36.36 77.27	47.05	3.62 4.37	83
17.08.	FAST1	defect control	28.37 65.45	43.35	2.44 4.61	53
17.09.	FAST1	defect control	36.99 87.34	43.35	3.87 6.38	61
17.10.	Standard	defect control	49.36 93.75	52.65	5.81 5.05	115
17.11.	Standard	defect control	34.19 84.76	40.34	4.00 5.26	76
17.12.	Standard	defect control	37.16 71.94	51.65	3.54 3.52	100
17.13.	FAST1	defect control	32.02 86.97	36.82	2.37 4.58	52
17.14.	FAST1	defect control	35.67 75.21	47.42	3.31 4.74	70
17.15.	FAST2	defect control	25.0 78.9	31.68	3.18 2.83	113
17.16.	FAST2	defect control	38.8 75.3	51.52	4.06 4.78	85
17.17.	FAST2	defect control	36.3 65.1	55.76	2.44 2.76	88
17.18.	FAST2	defect control	20.4 77.3	26.39	2.58 4.50	57
17.19.	FAST2	defect control	18.5 74.3	25.89	2.64 3.39	78
17.20.	FAST2	defect control	22.0 70.2	31.33	3.70 3.78	98

Tab.6: Ergebnisse der  $\mu$ CT Messungen in [mm<sup>3</sup>] (VOI = volume of interest; TV = Totales Volumen der Maske; BV = Bone Volume = Knochenvolumen in mm<sup>3</sup>; BV/TV = Dichte des Knochenvolumens)

Schaf Nr.	TV VOI1 [mm <sup>3</sup> ]	TV VOI2 [mm <sup>3</sup> ]	TV Schaf [mm <sup>3</sup> ]	TV VOI3 [mm <sup>3</sup> ]	BV Spalt [mm <sup>3</sup> ]	BV VOI1 [mm <sup>3</sup> ]	BV VOI2 [mm <sup>3</sup> ]	BV Schaf [mm <sup>3</sup> ]	BV VOI3 [mm <sup>3</sup> ]
17_03	750	12922	7585	12922	1324	421	7264	7080	7264
17_04	1160	18452	11503	18452	2354	646	11239	10838	11239
17_05	1065	17346	11023	17346	3181	774	11399	10625	11399
17_06	1006	16376	9895	16376	2307	694	9954	9364	9954
17_07	1113	17738	10579	17738	1950	590	10336	9920	10336
17_08	1059	18069	10034	18069	1994	607	10122	9490	10122
17_09	1222	17918	11502	17918	2058	852	11421	11003	11421
17_10	1213	20153	11518	20153	2737	840	11603	11036	11603
17_11	1253	20423	11796	20423	2234	701	12302	11061	12302
17_12	1171	16747	10264	16747	2013	884	10307	9779	10307
17_13	1259	24112	15318	24112	1588	593	15249	14347	15249
17_14	1040	17380	10425	17380	2352	632	10515	9713	10515
17_15	1109	17299	10278	17299	2263	687	10019	9549	10019
17_16	1130	18758	10739	18758	2520	662	11436	10132	11436
17_17	1034	17268	9884	17268	2538	731	9989	9305	9989
17_18	903	15560	9253	15560	1971	557	9425	8726	9425
17_19	955	16529	9679	16529	1579	583	9848	9101	9848
17_20	994	19427	10478	19427	2135	653	10318	9948	10318

Tab.7: Ergebnisse der  $\mu$ CT Messungen in % (VOI = volume of interest; TV = Totales Volumen der Maske; BV = Bone Volume = Knochenvolumen in mm<sup>3</sup>; BV/TV = Dichte des Knochenvolumens)

Schaf Nr.	BV/TV VOI3 [%]	BV/TV VOI1 [%]	BV Spalt/TV VOI1 [%]	BV Spalt/TV VOI3 [%]
17_03	56	56	177	10
17_04	61	56	203	13
17_05	66	73	299	18
17_06	61	69	229	14
17_07	58	53	175	11
17_08	56	57	188	11
17_09	64	70	168	11
17_10	58	69	226	14
17_11	60	56	178	11
17_12	62	75	172	12
17_13	63	47	126	7
17_14	61	61	226	14
17_15	58	62	204	13
17_16	61	59	223	13
17_17	58	71	245	15
17_18	61	62	218	13
17_19	60	61	165	10
17_20	53	66	215	11

Tab.8: Ergebnisse der deskriptiven Beurteilung des transversen  $\mu$ CT Bilder

Schaf Nr.	Gruppe	Makroskopisch sichtbare Kallusbildung im transversen Schnitt
17.03.	Fast1	Kallus Ring nicht geschlossen
17.04.	Fast1	Kallus Ring geschlossen
17.05.	Standard	Kallus Ring geschlossen
17.06.	Standard	Kallus Ring fast geschlossen
17.07.	Standard	Kallus Ring geschlossen
17.08.	Fast1	Kallus Ring nicht geschlossen, cranial weiter offen
17.09.	Fast1	Kallus Ring nicht geschlossen
17.10.	Standard	Kallus Ring geschlossen
17.11.	Standard	Kallus Ring fast geschlossen
17.12.	Standard	Kallus Ring nicht geschlossen, laterocaudale und mediocaudale Ausbuchtungen
17.13.	Fast1	Kallus Ring teilweise geschlossen, laterocaudal weniger Kallusbildung
17.14.	Fast1	Kallus Ring geschlossen
17.15.	Fast2	Kallus Ring nicht geschlossen, laterocaudale und mediocaudale Ausbuchtungen
17.16.	Fast2	Kallus Ring nicht geschlossen, laterocaudale und mediocaudale Ausbuchtungen
17.17.	Fast2	Kallus Ring nicht geschlossen, laterocaudale und mediocaudale Ausbuchtungen
17.18.	Fast2	Kallus Ring fast geschlossen, caudale Ausbuchtungen, cranial weiter offen
17.19.	Fast2	Kallus Ring nicht geschlossen, laterocaudale und mediocaudale Ausbuchtungen
17.20.	Fast2	Kallus Ring geschlossen, laterocaudale und mediocaudale Ausbuchtungen

Tab.9.1: Ergebnisse der semi-quantitativen Bewertung der Radiographien, angefertigt 3,6,7,8 sowie 9 Wochen post-OP im kraniokaudalen sowie mediolateralen Strahlengang.

	Wochen post OP	Gruppe		
		Standard	FAST 1	FAST 2
<b>Kallus lateral in der kraniokaudalen Projektion</b>	3	1.33 ± 1.03	1.17 ± 0.41	2.17 ± 1.17
	6	3.67 ± 0.52	2.83 ± 0.41	3.00 ± 0.63
	7	3.83 ± 0.52	3.00 ± 0.00	3.08 ± 0.66
	8	4.00 ± 0.00	3.17 ± 0.41	3.67 ± 0.52
	9	3.75 ± 0.42	3.25 ± 0.76	3.42 ± 0.38
	9 (Nagel raus)	3.75 ± 0.42	3.25 ± 0.76	3.42 ± 0.38
<b>Kallus medial in der kraniokaudalen Projektion</b>	3	1.08 ± 0.49	1.17 ± 0.76	1.25 ± 1.08
	6	2.58 ± 0.92	2.33 ± 1.03	2.92 ± 0.20
	7	2.67 ± 1.37	2.33 ± 1.03	3,1 ± 0.50
	8	3.17 ± 1.17	2.67 ± 0.52	3.33 ± 0.52
	9	2.92 ± 1.43	2.75 ± 0.88	3.33 ± 0.41
	9 (Nagel raus)	2.92 ± 1.43	2.75 ± 0.88	3.33 ± 0.41
<b>Kallus kaudal in der mediolateralen Projektion</b>	3	1.42 ± 0.92	1.08 ± 0.20	1.40 ± 0.55
	6	3.50 ± 0.55	3.00 ± 0.63	3.00 ± 0.00
	7	3.67 ± 0.52	3.33 ± 0.52	3.50 ± 0.50
	8	3.80 ± 0.41	3.42 ± 0.49	3.80 ± 0.42
	9	3.58 ± 0.49	3.42 ± 0.49	3.92 ± 0.20
	9 (Nagel raus)	3.58 ± 0.49	3.42 ± 0.49	3.90 ± 0.22
<b>Kallus kranial in der mediolateralen Projektion</b>	3	0.25 ± 0.42	0.42 ± 0.49	0.3 ± 0.27
	6	2.83 ± 0.75	2.00 ± 1.26	0.90 ± 0.42
	7	3.17 ± 0.75	2.33 ± 1.03	1.41 ± 0.8
	8	3.83 ± 0.41	3.00 ± 1.10	1.50 ± 1.27
	9	3.58 ± 0.49	3.17 ± 0.75	1.92 ± 1.50
	9 (Nagel raus)	3.58 ± 0.50	3.17 ± 0.75	2.30 ± 1.30
<b>Fissuren proximal</b>	3	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	6	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	7	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	8	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	9	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	9 (Nagel raus)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
<b>Fissuren distal</b>	3	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	6	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	7	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	8	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	9	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	9 (Nagel raus)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00



Tab.9.2: Ergebnisse der semi-quantitativen Bewertung der Radiographien, angefertigt 3,6,7,8 sowie 9 Wochen post-OP im kraniokaudalen sowie mediolateralen Strahlengang.

	Wochen post OP	Gruppe		
		Standard	FAST 1	FAST 2
<b>Kallusdichte kranial</b>	3	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.02
	6	1.17 ± 0.41	1.50 ± 0.55	1.17 ± 0.41
	7	1.33 ± 0.52	1.50 ± 0.50	1.40 ± 0.58
	8	1.83 ± 4.1	1.67 ± 0.52	1.25 ± 0.50
	9	1.83 ± 4.1	1.67 ± 0.58	1.50 ± 0.72
	9 (Nagel raus)	1.67 ± 0.52	1.83 ± 0.41	1.20 ± 0.84
<b>Kallusdichte kaudal</b>	3	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
	6	1.83 ± 0.41	1.67 ± 0.52	1.83 ± 0.41
	7	1.67 ± 0.52	1.83 ± 0.41	1.83 ± 0.41
	8	2.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00	1.83 ± 0.41
	9	2.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00	1.83 ± 0.41
	9 (Nagel raus)	2.00 ± 0.00	1.83 ± 0.41	
<b>Kallusdichte medial</b>	3	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
	6	1.50 ± 0.55	1.33 ± 0.52	1.25 ± 0.42
	7	1.67 ± 0.52	1.67 ± 0.52	1.58 ± 0.49
	8	1.67 ± 0.52	1.67 ± 0.52	1.75 ± 0.42
	9	1.83 ± 0.41	1.83 ± 0.41	1.50 ± 0.55
	9 (Nagel raus)	1.83 ± 0.41	2.00 ± 0.00	1.67 ± 0.52
<b>Kallusdichte lateral</b>	3	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
	6	1.50 ± 0.55	1.67 ± 0.52	1.58 ± 0.49
	7	2.00 ± 0.00	1.67 ± 0.52	1.75 ± 0.42
	8	2.00 ± 0.00	2.00 ± 0.63	1.83 ± 0.63
	9	2.00 ± 0.00	1.83 ± 0.41	1.80 ± 0.45
	9 (Nagel raus)	2.00 ± 0.00	1.83 ± 0.41	1.83 ± 0.41

Tab.9.3: Ergebnisse der semi-quantitativen Bewertung der Radiographien, angefertigt 3,6,7,8 sowie 9 Wochen post-OP im kraniokaudalen sowie mediolateralen Strahlengang.

	Wochen post OP	Gruppe		
		Standard	FAST 1	FAST 2
Remodeling kranial	3	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	6	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	-0.17 ± 0.41
	7	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.33 ± 0.52
	8	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.50 ± 0.55
	9	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	-0.67 ± 0.52
	9 (Nagel raus)	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.42	-0.50 ± 0.84
Remodeling kaudal	3	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00
	6	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00
	7	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	-0.17 ± 0.41
	8	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.17 ± 0.41
	9	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.17 ± 0.41
	9 (Nagel raus)	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.17 ± 0.41
Remodeling lateral	3	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00
	6	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.17 ± 0.41
	7	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.17 ± 0.41
	8	0.00 ± 0.00	0.50 ± 0.55	-0.33 ± 0.52
	9	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	0.17 ± 0.98
	9 (Nagel raus)	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	0.17 ± 0.98
Remodeling medial	3	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	6	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	-0.17 ± 0.41
	7	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	-0.17 ± 0.41
	8	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.50 ± 0.55
	9	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.17 ± 0.75
	9 (Nagel raus)	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.52	-0.17 ± 0.75
Ausdünnung distal	3	0.33 ± 0.52	0.50 ± 0.55	0.33 ± 0.52
	6	0.17 ± 0.41	0.17 ± 0.41	0.50 ± 0.55
	7	0.17 ± 0.41	0.17 ± 0.41	0.50 ± 0.55
	8	0.17 ± 0.41	0.17 ± 0.41	0.50 ± 0.55
	9	0.17 ± 0.41	0.17 ± 0.41	0.50 ± 0.55
	9 (Nagel raus)	0.17 ± 0.41	0.17 ± 0.41	0.50 ± 0.55

Tab.10: Ergebnisse der quantitativen histologischen Untersuchung pro Gruppe

Gruppe	Total alter Knochen %	Total neuer Knochen%	Total Bindegewebe %	Total Knorpel %
Standard	42.49 ± 7.50	33.56 ± 5.67	23.79 ± 5.56	0.16 ± 0,11
FAST 1	42.60 ± 7.41	27.10 ± 4.43	29.94 ± 5.82	0.36 ± 0.29
FAST 2	44.29 ± 6.65	31.60 ± 3.91	23.84 ± 4.58	0.27 ± 0.14

Tab.11: Ergebnisse der quantitativen histologischen Untersuchung pro Tier

Schaf Nr.	Gruppe	Komplettes Gewebe			
		alter Knochen [%]	neuer Knochen [%]	Binde-gewebe [%]	Knorpel [%]
17.03	FAST1	43.61	24.45	31.21	0.74
17.04	FAST1	42.18	26.87	30.78	0.16
17.05	Standard	37.41	39.43	23.03	0.13
17.06	Standard	48.87	36.68	14.29	0.16
17.07	Standard	35.81	32.97	30.90	0.32
17.08	FAST1	32.83	31.75	34.72	0.70
17.09	FAST1	52.44	28.80	18.43	0.33
17.10	Standard	37.71	35.41	26.89	0.00
17.11	Standard	40.66	33.91	25.19	0.25
17.12	Standard	54.48	22.95	22.46	0.12
17.13	FAST1	48.64	19.87	31.43	0.06
17.14	FAST1	35.92	30.88	33.04	0.16
17.15	FAST2	34.49	33.68	31.30	0.53
17.16	FAST2	44.95	28.95	25.95	0.15
17.17	FAST2	47.62	28.00	24.10	0.28
17.18	FAST2	46.06	33.78	19.85	0.30
17.19	FAST2	53.46	27.84	18.48	0.21
17.20	FAST2	39.14	37.35	23.34	0.16

Tab.12: Ergebnisse der quantitativen Untersuchung der Fluoreszenz pro Gruppe

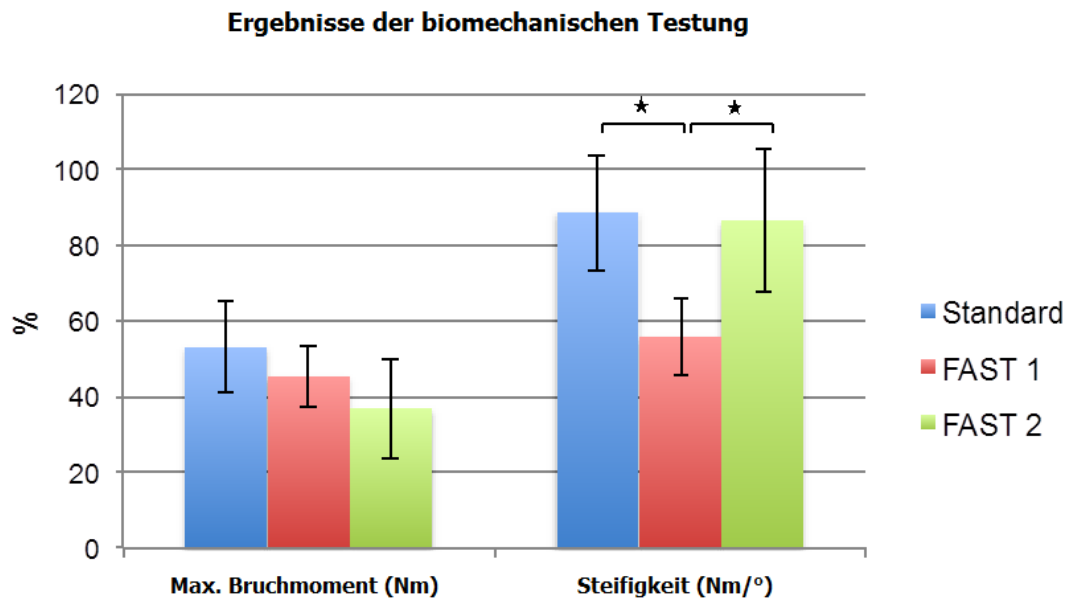
Gruppe	Calcein grün	Xylenol Orange	Oxytetracyclin
Standard	3.52 ± 2.47	7.80 ± 3.95	3.18 ± 1.90
FAST 1	3.19 ± 1.56	8.32 ± 3.85	2.45 ± 2.33
FAST 2	2.46 ± 1.81	9.76 ± 5.71	4.79 ± 2.93

Tab.13: Ergebnisse der quantitativen Untersuchung der Fluoreszenz pro Tier

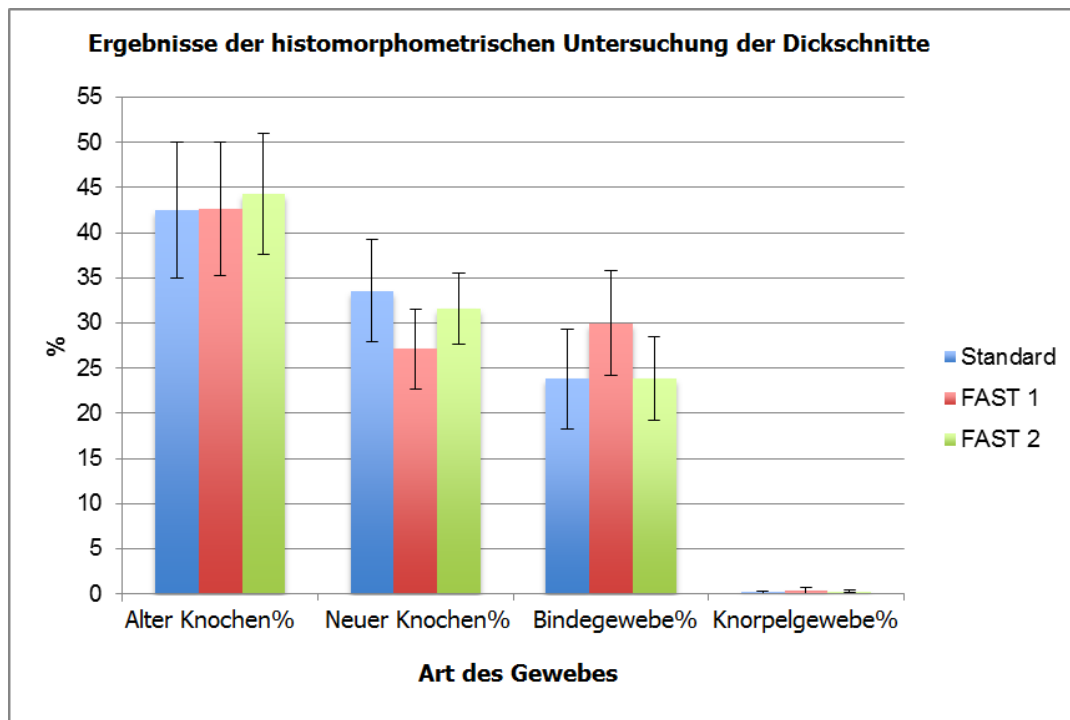
Schaf Nr.	Gruppe	Calcein grün %	Xylenol orange %	Oxytetracyclin%
17.03	FAST1	2.28	13.41	5.48
17.04	FAST1	3.53	20.69	0.71
17.05	Standard	8.16	47.89	2.44
17.06	Standard	2.53	14.84	0.93
17.07	Standard	4.12	24.15	6.58
17.08	FAST1	4.57	26.78	5.27
17.09	FAST1	5.36	31.35	2.01
17.10	Standard	2.96	17.28	3.49
17.11	Standard	2.11	12.34	3.30
17.12	Standard	1.25	7.28	2.33
17.13	FAST1	1.44	8.43	0.41
17.14	FAST1	1.94	11.32	0.81
17.15	FAST2	2.45	14.31	7.88
17.16	FAST2	1.20	7.00	2.85
17.17	FAST2	4.30	25.07	1.92
17.18	FAST2	0.92	5.37	2.67
17.19	FAST2	0.87	5.07	4.57
17.20	FAST2	5.23	30.39	8.89

## 8.2 Diagramme

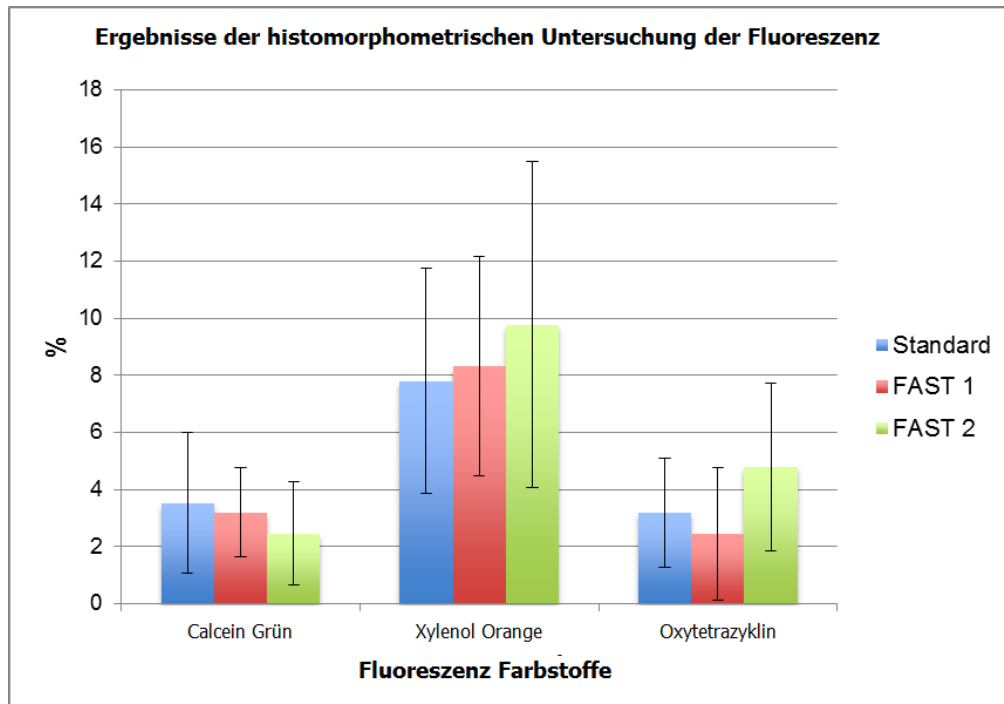
Dia.1: Ergebnisse der biomechanischen Testung



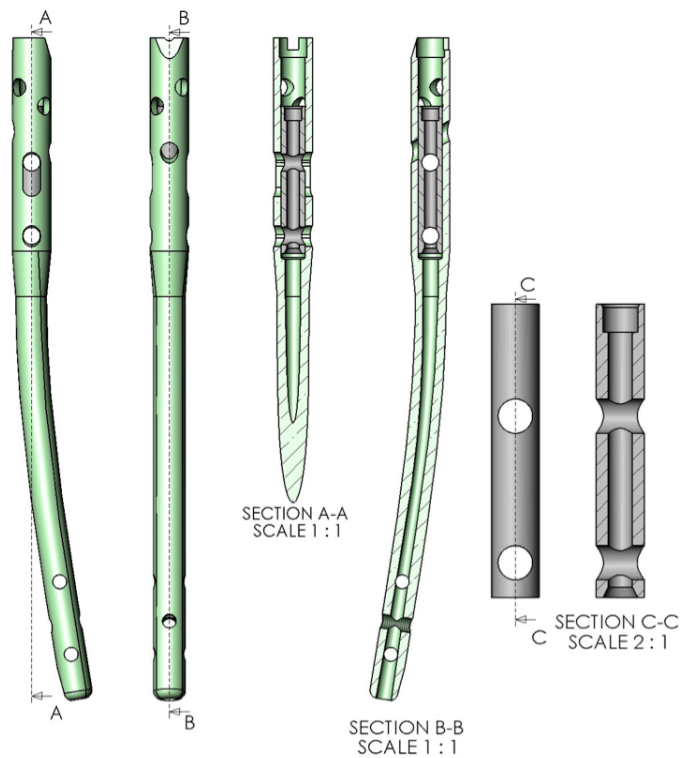
Dia.2: Ergebnisse der quantitativen Histologie



Dia.2: Ergebnisse der quantitativen Fluoreszenz



### 8.3 Abbildungen



**Abb.1: Graphische Darstellung des Implantatdesigns**

**A:** Seitliche Übersicht des Fast-Nail

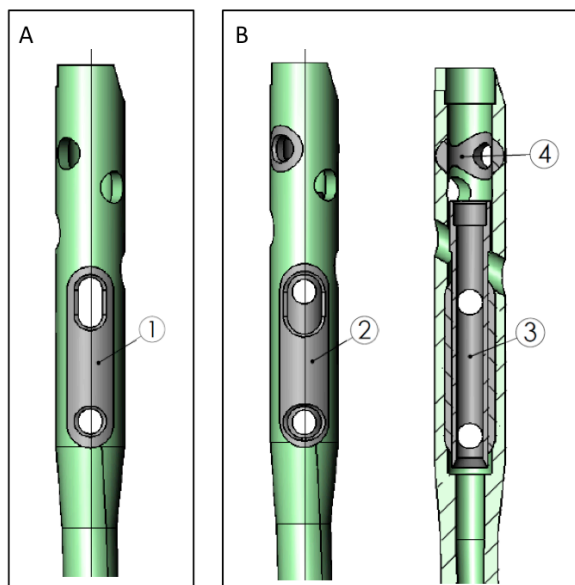
**B:** Gerade Übersicht des Fast-Nail

**C:** Detailansicht des beweglichen Inserts

**A-A:** Horizontaler Querschnitt durch den proximalen Teil des Fast-Nail und Lage des beweglichen Inserts (grau)

**B-B:** Sagitaler Querschnitt durch den kompletten Fast-Nail

**C-C:** Insert im horizontalen Querschnitt



**Abb.2: Graphische Darstellung des Implantatdesigns (modifizierte Bereiche grau hinterlegt)**

**A:** Seitliche Übersicht des Fast-Nail Kopfes

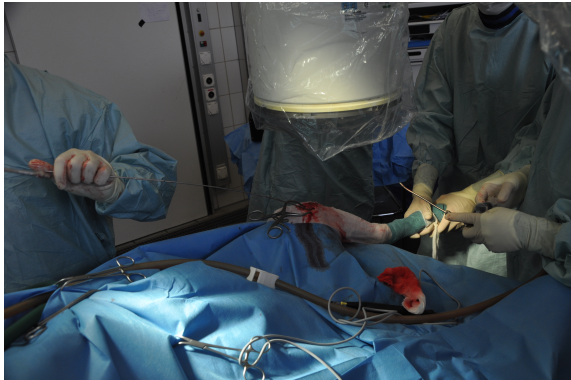
**B:** Seitliche Übersicht und Querschnitt des Fast-Nail

**1:** Modifikation des Korpus

**2:** Lage des Insert im Korpus

**3:** Querschnitt durch das Insert im modifizierten Korpus

**4:** Loch für die proximale Verriegelungsschraube



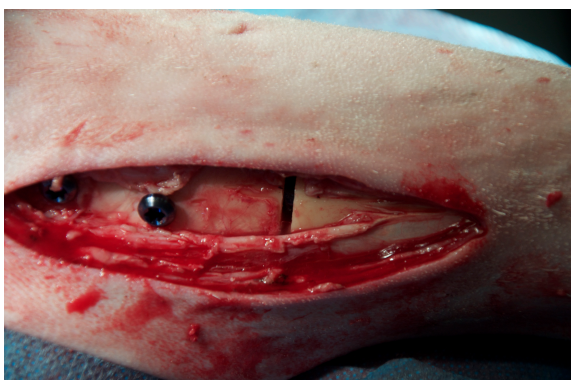
**Abb.3 : Darstellung des  
Operationsverlaufs: Aushöhlen der  
Markhöhle der Tibia**



**Abb.4: Darstellung des  
Operationsverlaufs: Temporäre Fixierung  
des eingesetzten Nagels**



**Abb.5: Darstellung des  
Operationsverlaufs: Durchführung der  
Tibiaosteotomie ohne Nagel im Schaft**

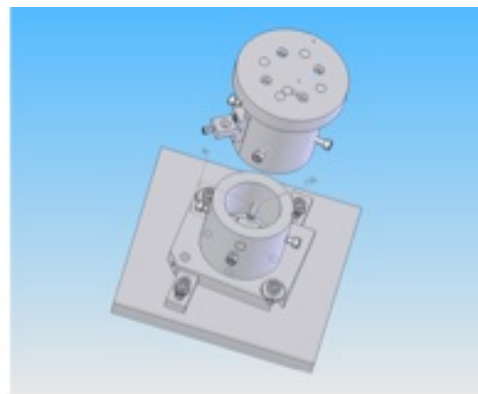
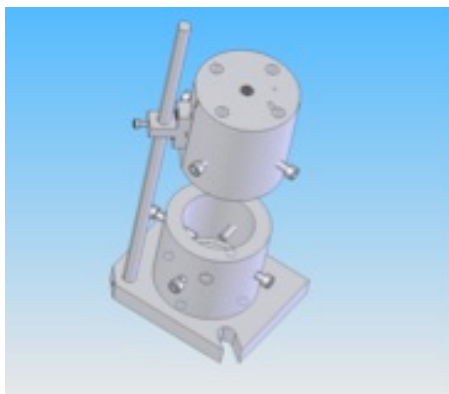


**Abb.6 Darstellung des  
Operationsverlaufs: 3mm  
Osteotomiespalt nach endgültiger  
Fixierung des Nagels**





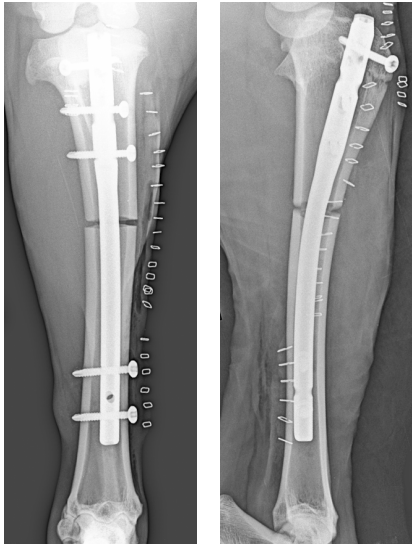
**Abb.7: Explantierte und von Weichteilgewebe gesäuberte Tibia mit Marknagel nach der Schlachtung**



**Abb.8: Graphische Darstellung des Zylinders für die Biomechanische Testung.**  
Links erkennbar eine vertikale Stange welche ein achsengenaues Einbetten der Knochen ermöglicht. Der Knochen wird jeweils proximal und distal mit Schrauben fixiert. Das rechte Bild zeigt wie die vertikale Stange für den Testvorgang entfernt wird damit eine Torsion möglich ist.



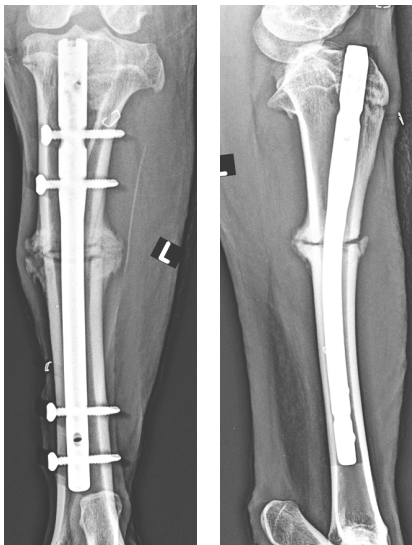
**Abb.9: Versuchsaufbau zur Testung von Torsionssteifigkeit und dem maximalen Drehmoment**



**Abb.10: Postoperative**  
Röntgenbilder anterior-posterior  
sowie laterolateral. Zu beachten die  
proximale Blockierungsschraube.



**Abb.11: Röntgenbilder anterior-  
posterior sowie laterolateral 3**  
Wochen postoperativ



**Abb.12: Röntgenbilder anterior-  
posterior sowie laterolateral 6**  
Wochen postoperativ



Abb.13: Röntgenbilder anterior-posterior sowie laterolateral 7 Wochen postoperativ.



Abb.14: Röntgenbilder anterior-posterior sowie laterolateral 8 Wochen postoperativ.

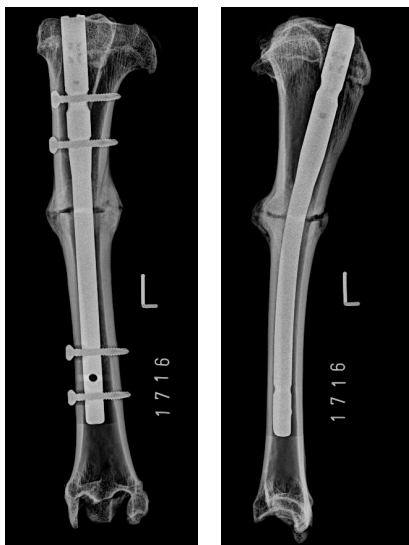


Abb.15: Röntgenbilder anterior-posterior sowie laterolateral 9 Wochen postoperativ und nach Explantation der Tibia nach der Schlachtung.

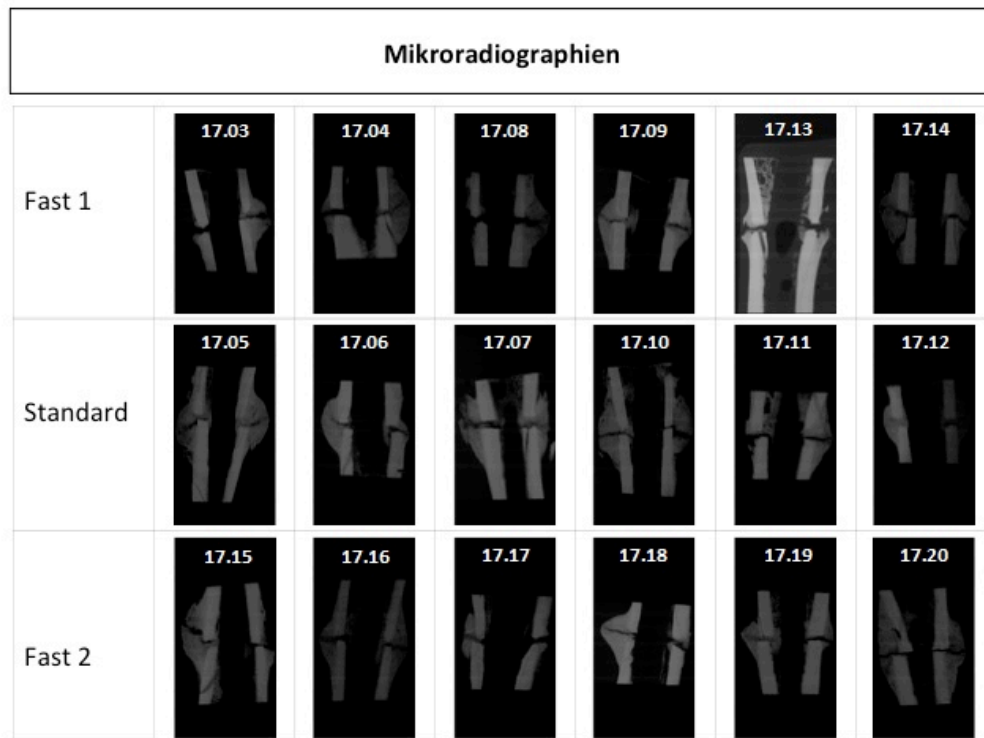


Abb.16 : Zusammenstellung der Mikroradiographien: Schnitt durch die Medianebene bei Fast 1 Gruppe, Fast 2 Gruppe und Kontrollgruppe (=Standard)

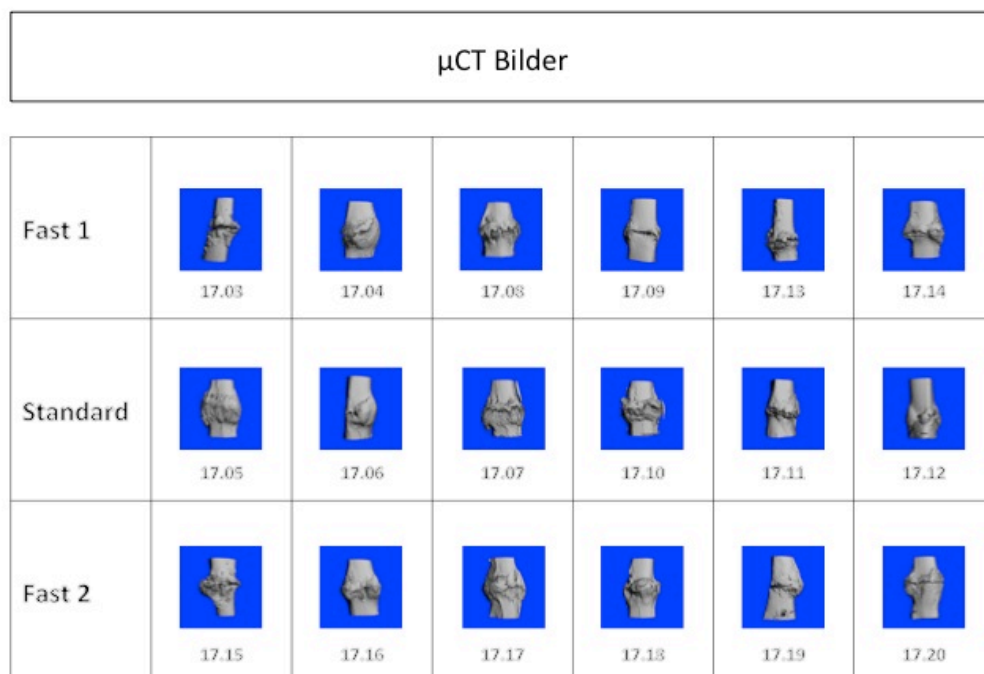


Abb.17: Zusammenstellung von computergenerierten Bildern auf Grundlage der  $\mu$ CT-Messung: Darstellung des Kallus bei Fast 1 Gruppe, Fast 2 Gruppe und Kontrollgruppe (=Standard)

### Histologie - Färbung mit Toluidinblau

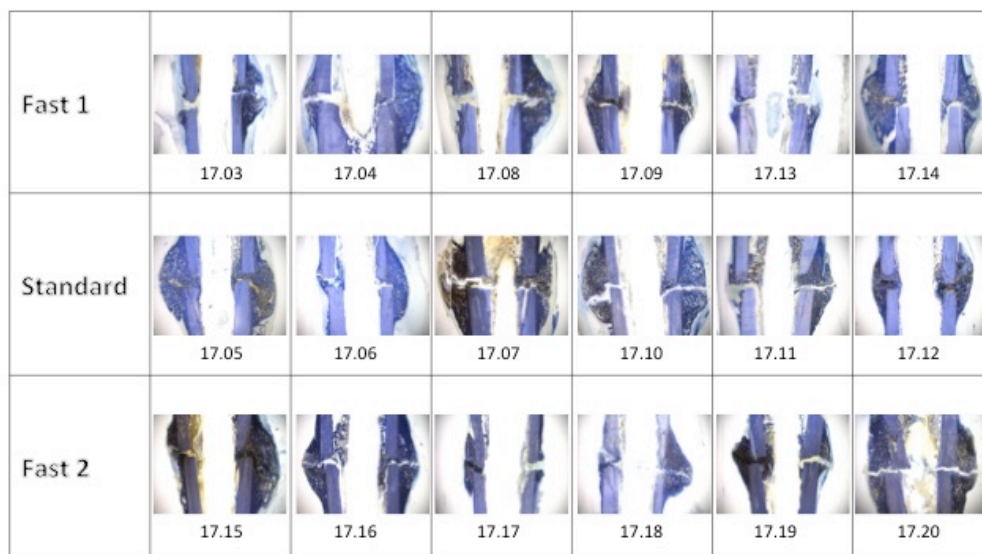


Abb.18: Zusammenstellung der histologischen Schnitte: Darstellung der zentralen Schnittebene bei Fast 1 Gruppe, Fast 2 Gruppe und Kontrollgruppe (=Standard)

### Histologie Dickschnitte - Bearbeitung mit Photoshop für die histomorphometrische Auswertung

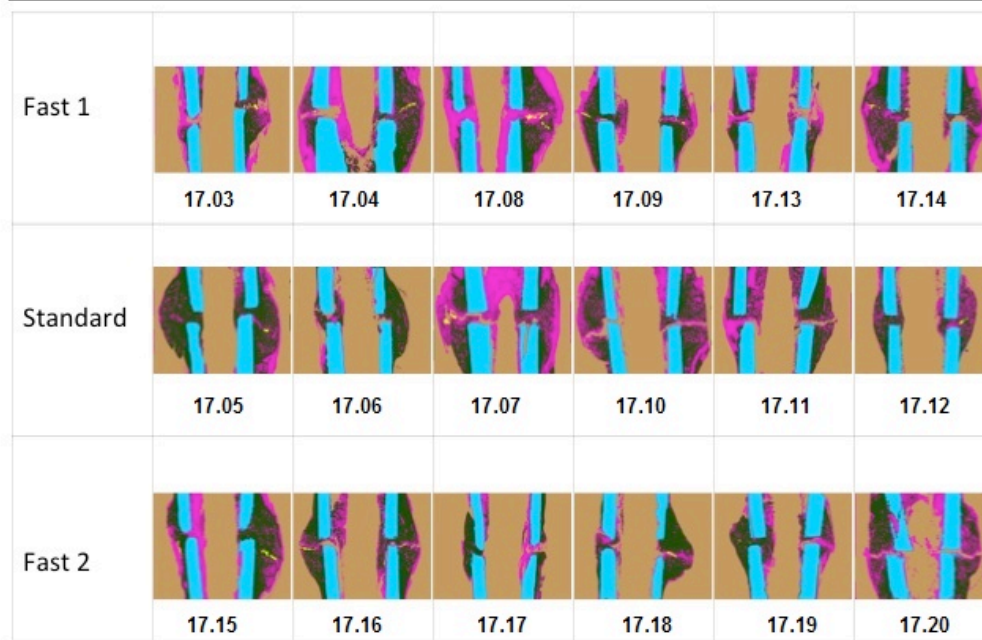


Abb.19: Zusammenstellung der histologischen Schnitte nach Anfärbung mit Adobe Photoshop : Darstellung der zentralen Schnittebene bei Fast 1 Gruppe, Fast 2 Gruppe und Kontrollgruppe (=Standard)

Quantitative Beurteilung der einzelnen Fluorochrome: **Calcein-Grün**

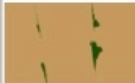




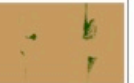









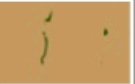


Fast 1						
	17.03	17.04	17.08	17.09	17.13	17.14
Standard						
	17.05	17.06	17.07	17.10	17.11	17.12
Fast 2						
	17.15	17.16	17.17	17.18	17.19	17.20

Abb.20: Zusammenstellung der Fluoreszenz Schnitte in der Calcein-Grün Fraktion nach der Anfärbung mit Adobe Photoshop

Quantitative Beurteilung der einzelnen Fluorochrome: **Xylenol Orange**



















Fast 1						
	17.03	17.04	17.08	17.09	17.13	17.14
Standard						
	17.05	17.06	17.07	17.10	17.11	17.12
Fast 2						
	17.15	17.16	17.17	17.18	17.19	17.20

Abb.21: Zusammenstellung der Fluoreszenz Schnitte in der Xylenol-Orange Fraktion nach der Anfärbung mit Adobe Photoshop



Quantitative Beurteilung der einzelnen Fluorochrome: **Oxytetracyklin**

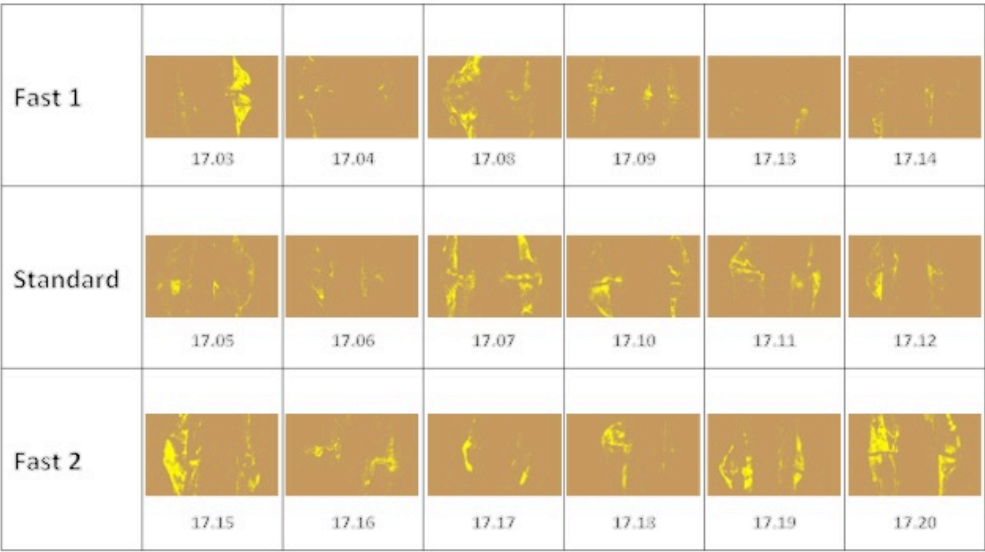


Abb.22: Zusammenstellung der Fluoreszenz Schnitte in der Oxytetracyklin Fraktion nach der Anfärbung mit Adobe Photoshop

Fluoreszenzschnitte: Darstellung der drei Fluorochrome im Gesamtbild

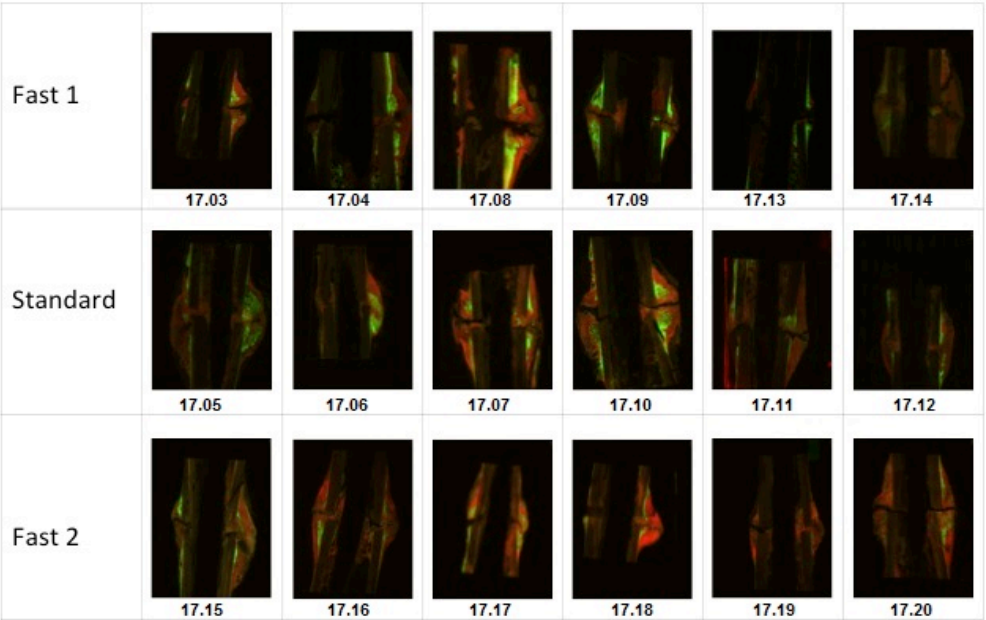


Abb.23: Zusammenstellung der drei Fluorochrome (Calcein-Grün: Grün; Xylenol-Orange: Rot; Oxytetracyklin: Braun) im unbearbeiteten Gesamtbild

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt an dieser Stelle Frau Prof. Dr. Brigitte von Rechenberg für ihre herausragende Persönlichkeit und Menschlichkeit und in ihrer Funktion als Institutsleiterin.

Ich bedanke mich bei ihr von Herzen dafür, ein Teil des grossen MSRU-Teams gewesen sein zu dürfen.

Das komplette Fast-Nail Projekt beruht in Entstehung und Verlauf auf der erfolgreichen Zusammenarbeit unzähliger Personen. Die Kombination der Leistungen, Begabungen und Talente und des Engagements eines jeden Einzelnen haben dieses Projekt in seiner vollständigen Komplexität ermöglicht.

Für mich als Doktorand gelten mein Dank und höchster Respekt daher dem Entwicklerteam des Fast-Nails in Cork, der Betreuung der Versuchstierherde in Küttigen, dem Chirurgie- und Anästhesiepersonal, dem gesamten Personal des Tierspitals in Betreuung und Diagnostik, dem Laborteam und den Mitarbeitern der Administration. Besonderen Dank natürlich an das komplette Team der MSRU.

Um niemanden zu vergessen und keine Leistung zu schmälern, verzichte ich hier bewusst auf die Nennung von Namen einzelner Personen. Ganz persönlich kann ich mich an so viele Formen der Unterstützung für dieses Projekt erinnern, von so vielen verschiedenen Personen und auf so viele verschiedene Arten und Weisen, dass sich bei dieser Danksagung bitte alle diese Menschen angesprochen fühlen mögen!



**Lebenslauf**

Geburtsdatum 18.02.1983

Geburtsort Neuss, Deutschland

Nationalität Deutsch

08.1989-06.1993 Grundschule Görresschule, Neuss

08.1993-06.2002 Marie-Curie-Gymnasium, Neuss

11.06.02 Abitur

10.2002-06.2003 Wehrdienst als Sanitätssoldat (Luftwaffe)

08.2003-07.2004 Pflegehelfer im Johanna-Etienne Krankenhaus, Neuss

10.2004-04.2010 Studium der Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität, Giessen, Deutschland

28.04.10 Approbation als Tierarzt

08.2010-12.2012 Assistenztierarzt in der Tierklinik Krauss in Düsseldorf, Deutschland

02.2012-01.2014 Anfertigung der Dissertation und Mitarbeit in der Musculoskeletal Research Unit (MSRU) unter Leitung von Frau Prof. Dr. med. vet. Brigitte von Rechenberg Departement für Pferde der Vetsuisse Fakultät der Universität Zürich, Schweiz

05.2014-06.2015 Assistenztierarzt in der Tierarztpraxis Feusi in Wädenswil, Schweiz

08.2015-01.2016 Tierarzt in der Tierarztpraxis Dr. Sandmann in Neuss, Deutschland mit anschliessender Übergabe der Praxis

Seit 01.2016 Praktizierender Tierarzt in der Tierarztpraxis Reichle in Neuss